



**Hélder Filipe Neves
Silva**

**Efeito da água sulfúrea em portadores de
*Staphylococcus aureus***



**Hélder Filipe Neves
Silva**

**Efeito da água sulfúrea em portadores de
*Staphylococcus aureus***

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, e coorientação da Professora Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso, Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Este trabalho foi realizado no âmbito do Projecto CENTRO-01-CT62-FEDER-002035 “Avaliação do efeito terapêutico do Termalismo em indivíduos com Rinite alérgica e em indivíduos com Artrite Reumatóide”, do Programa Operacional Regional do Centro 2007-2013 QREN



O júri

Presidente

Prof.^a Doutora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha
Professora Auxiliar no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Arguente

Prof.^a Doutora Ana Mafalda Loureiro Fonseca
Professora Auxiliar na Faculdade de Ciência da Saúde da Universidade da Beira Interior

Orientadora

Prof.^a Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz
Professora Associada no Departamento de Química da Universidade da Beira Interior

Coorientadora

Prof.^a Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso
Professora Auxiliar no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Neste espaço pretendo agradecer a todas as pessoas que me ajudaram na concretização deste trabalho.

Em primeiro lugar, agradeço às minhas orientadoras, Professora Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz e Professora Doutora Sónia Mendo Barroso pela orientação tão bem conseguida.

Em segundo lugar, o meu forte agradecimento ao Dr. Paulo Tavares, técnico superior do Serviço de Patologia Clínica da ULS Guarda, pelo apoio incondicional e confiança nas minhas capacidades, pelos raspanetes, pelas chamadas de atenção, pelas críticas construtivas que realizou ao longo deste trabalho. Graças a isso cresci não só a nível profissional, mas também pessoal. Agradeço também as horas despendidas para ouvir as minhas dúvidas e sugestões e pelos sábios conhecimentos transmitidos.

Agradeço também à Dr.^a Fátima Vale e Dr.^a Ana Simões pelo apoio no laboratório de microbiologia e pelo conhecimento científico, importantes para a realização deste projeto.

À Dr.^a Manuela e a toda a equipa técnica de diagnóstico e terapêutica que contribuíram para a minha aprendizagem contínua e transmissão de conhecimentos teóricos e práticos essenciais para a realização deste trabalho. Um especial obrigado à Ana Monteiro, à Rita Tavares e à Carolina Moura que sem elas este trabalho não seria possível. Às auxiliares do serviço de Patologia Clínica, pela paciência, dedicação e apoio demonstrado, o meu “bem-haja”.

A todas as equipas técnicas das termas do Cró, Manteigas, Almeida e Longroiva deixo o meu agradecimento, em especial ao Dr. António Jorge Santos Silva que selecionou os doentes para a realização deste estudo. Para além disso, gostava de deixar um agradecimento sentido à equipa técnica das termas do Cró, pela componente humana, pelo apoio e incentivo na concretização deste trabalho e pela forma como me acolheram durante o período de estudo. A todos um muito obrigado.

Ao Ricardo e à Silvana por todos os momentos de socialização e distração vividos na Guarda, após longas horas de estudo e/ou trabalho, sem dúvida também importantes na realização deste trabalho. À Joana Campos que me apoiou incondicionalmente na fase inicial deste projeto dando-me força e ânimo para conseguir ultrapassar as dificuldades.

Agradeço à minha família por todos os ensinamentos, pela coragem e determinação transmitida ao longo dos anos para eu conseguir chegar onde estou.

A ti Filipa Paiva, o meu enorme obrigado! Pela paciência, compreensão, amor, força e ânimo que tens transmitido para superar todas as barreiras. És a “minha claqué” de incentivo para chegar a bom porto.

palavras-chave

Patologias do trato respiratório superior, rinite alérgica, rinossinusite crónica, água termal sulfúrea, tratamento termal.

resumo

Introdução: Portugal é um dos países europeus mais ricos em águas termais a par da França, Itália e Alemanha. No entanto, apesar da eficácia das águas termais ser reconhecida, não existem ainda muitos estudos científicos que comprovem de forma inequívoca a sua ação terapêutica.

Objetivos: Avaliação do efeito da água termal sulfúrea das termas de Longroiva, Caldas de Manteigas, Cró e Almeida em indivíduos com rinite alérgica e rinossinusite crónica, através da análise da variação da flora nasal e orofaríngea, antes e após o tratamento termal, identificação de portadores de *S. aureus* e respetivas alterações no perfil inflamatório.

Métodos: A população de estudo foi constituída por 28 indivíduos com rinite alérgica e 78 indivíduos com rinossinusite crónica, aos quais foi realizada uma colheita de sangue e exsudados nasais e orofaríngeos, antes e após o tratamento termal, para posterior análise microbiológica e determinação dos parâmetros inflamatórios.

Resultados/Discussão: Os resultados obtidos demonstraram diminuição do teor de unidades formadoras de colónias (UFC) nos exsudados, após tratamento termal. De facto, os casos com nível de colonização elevado diminuíram para teores inferiores de UFC, observando também em muitas situações a eliminação total das bactérias. Na flora nasal, obteve-se uma redução estatisticamente significativa de *S. aureus* e *Neisseria* spp., e na flora da orofaríngea a diminuição ocorreu apenas no género *Neisseria*. Este decréscimo é benéfico tendo em conta, principalmente, o papel das bactérias nestas patologias, permitindo a redução da inflamação e melhoria dos sintomas após tratamento. Em relação ao perfil inflamatório dos 106 doentes, evidenciou-se o aumento da Ig A e da Ig M, o que demonstra o papel anti-inflamatório destas águas. O aumento de triptase foi um resultado inesperado e necessita de estudos futuros. No perfil inflamatório de portadores e não portadores de *S. aureus* observou-se apenas o aumento de Ig A, Ig M e triptase em indivíduos não portadores desta bactéria, apesar da diminuição significativa de *S. aureus* a nível nasal. Para além disso, verificou-se que apesar do *S. aureus* não estar associado à atopia, está relacionado com o aumento de Ig E total. Esta diminuiu em 46% dos indivíduos colonizados por *S. aureus* a nível nasal, mas sem significância estatística.

Conclusões: Neste estudo evidenciou-se que água termal sulfúrea apresenta uma ação bactericida e um efeito anti-inflamatório, podendo contribuir assim para a diminuição da inflamação, redução dos sintomas e melhoria na qualidade de vida dos doentes.

Keywords

Upper respiratory tract disease, allergic rhinitis, chronic rhinosinusitis, sulphurous thermal water, thermal therapy.

Abstract

Introduction: Portugal is one of the richest European countries in thermal waters however, despite the effectiveness of thermal waters have been recognized, there are only a few scientific studies that proved its therapeutic action.

Objective: To evaluate the effect of sulphurous thermal water of Longroiva, Caldas de Manteigas, Cró and Almeida spa in allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis by analyzing the variation of nasal and oropharyngeal flora before and after thermal treatment, the identification of *S. aureus* carriers and its inflammatory profile.

Methods: The study population was constituted by 28 individuals with allergic rhinitis and 78 with chronic rhinosinusitis. A blood sample and nasal and oropharyngeal swabs were collected, before and after thermal water treatment, for microbial analysis and determination of inflammatory parameters.

Results/Discussion: The results showed a decrease in the content of colony forming units (CFU) after thermal water treatment. In fact, the cases with high degree of colonization decreased to lower levels of CFU, and in some situations, there was a total elimination of the bacteria. In nasal flora a statistically significant reduction in *S. aureus* and *Neisseria* spp was obtained. On the other hand, in oropharyngeal flora was observed a decrease only in the genus *Neisseria*. This reduction is beneficial in view of the role of bacteria in these pathologies, thus allowing the decrease of inflammation and the relief of the symptoms after thermal treatment. With regard to inflammatory profile 106 patients showed an increase in Ig A and Ig M which demonstrates the anti-inflammatory role of these waters. The increase of tryptase was an unexpected result and needs further studies. The inflammatory profile of carriers and non-carriers of *S. aureus* showed increased Ig A, Ig M and tryptase only in non carriers, in spite of the significant decrease of *S. aureus* at nasal level. Furthermore, it was verified that despite the *S. aureus* is not associated with atopy, it is related with the increased total Ig E. After thermal treatment, this immunoglobulin decreased in 46% of individuals colonized with *S. aureus* at nasal level, but without statistical significance.

Conclusions: This study showed that the sulphurous thermal water presents a bactericidal action and an anti-inflammatory effect, thus contributing to a decrease of inflammation, reduction of symptoms and increase of the life quality of patients.

Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu.

Fernando Pessoa

Índice

Índice de Figuras	IV
Índice de gráficos.....	V
Índice de tabelas	VI
Índice de abreviaturas	VII
I. Introdução.....	9
1.1 Água mineral natural	9
1.1.1 Propriedades físico-químicas.....	9
1.1.2 Modalidades de utilização	10
1.1.3 Efeitos terapêuticos	11
1.1.4 Contraindicações	13
1.1.5 Nascentes termais estudadas.....	14
1.1.6 Técnicas de aplicação de água termal no trato respiratório – técnicas termais de Otorrinolaringologia (ORL)	14
1.2 Patologias do trato respiratório	15
1.2.1 Trato respiratório superior	16
1.3 Rinite alérgica	17
1.3.1 Epidemiologia.....	17
1.3.2 Definição	18
1.3.3 Fisiopatologia	19
1.3.4 Diagnóstico.....	23
1.3.5 Tratamento.....	24
1.4 Rinossinusite crónica	26
1.4.1 Epidemiologia.....	26
1.4.2 Definição	26
1.4.3 Fisiopatologia	27
1.4.4 Diagnóstico.....	32
1.4.5 Tratamento.....	33

1.5 Benefícios das águas sulfurosas no trato respiratório superior	33
1.6 Objetivos	36
II. Materiais e Métodos	37
2.1 Local e período de estudo	37
2.2 Critérios de seleção de amostras biológicas	37
2.3 Amostra em Estudo	37
2.3.1 Questionário	37
2.3.2 Colheita de amostras	38
2.3.2.1 Sangue	38
2.3.2.2 Exsudados nasais e orofaríngeos	38
2.4 Processamento laboratorial	39
2.4.1 Sangue total	39
2.4.1.1 Hemograma	39
2.4.1.2 Velocidade de sedimentação	40
2.4.2 Soro	40
2.4.2.1 Quantificação de Ig E específica a alérgenos inalantes, Ig E total, Ig E antienterotoxinas e triptase	40
2.4.2.1.1 Quantificação de Ig E específica a alérgenos inalantes (<i>Phadiatop</i> [®])	41
2.4.2.1.2 Quantificação de Ig E total	41
2.4.2.1.3 Quantificação de Ig E específica antienterotoxinas	41
2.4.2.1.4 Quantificação da triptase	42
2.4.2.2 Quantificação de Ig A, Ig M, Ig G, C3, C4 e PCR	42
2.4.3 Valores de referência	43
2.4.4 Exsudados nasais e orofaríngeos	43
2.4.4.1 Sementeira	44
2.4.4.2 Coloração de Gram	44
2.4.4.3 Prova da Catalase	45
2.4.4.4 Identificação de <i>S. aureus</i>	46

2.4.4.5 Identificação de MRSA	47
2.4.4.6 Prova da oxidase.....	48
2.4.4.7 VITEK 2 Compact.....	48
2.4.4.7.1 Preparação do inóculo	49
2.4.4.7.2 Transferência, selagem e incubação	49
2.4.4.7.3 Interpretação das reações.....	49
2.5 Tratamento estatístico	50
III. Resultados e Discussão.....	51
3.1 Caracterização da população de estudo	51
3.2 Caracterização da flora microbiana nasal e orofaríngea	57
3.3 Perfil inflamatório.....	70
3.3.1 Efeito da água termal sulfúrea no perfil inflamatório de portadores de <i>S. aureus</i>	70
3.3.1.1 Caracterização dos portadores de <i>S. aureus</i>	70
3.3.1.2 Quantificação e caracterização das células do sangue periférico em indivíduos portadores de <i>S. aureus</i>	71
3.3.1.3 Caracterização dos parâmetros inflamatórios em indivíduos portadores de <i>S. aureus</i>	74
3.3.1.3.1 Caracterização da população quanto à atopia.....	82
3.3.1.3.2 Indivíduos portadores de <i>S. aureus</i> e a atopia.....	82
V. Conclusão	85
VI. Perspetivas futuras.....	87
VII. Referências bibliográficas.....	89

Índice de Figuras

Figura 1. Indução e mecanismos efectores de uma resposta hipersensibilidade tipo I .	20
Figura 2. Fisiopatologia da rinite alérgica.	22
Figura 3. Técnica de sementeira em placa.....	44
Figura 4. Coloração de Gram..	45

Índice de gráficos

Gráfico 1. Total de inquiridos segundo o sexo.....	52
Gráfico 2. Total de inquiridos segundo o escalão etário.	52
Gráfico 3. Nível de escolaridade de acordo com a idade de acordo com os escalões etários dos inquiridos	53
Gráfico 4. Total de inquiridos subdivididos por patologia e sexo.....	53
Gráfico 5. Número de inquiridos de acordo com o intervalo de tempo que frequenta as termas.....	55
Gráfico 6. Indivíduos que utilizam as termas como única terapêutica e auxiliar à terapêutica farmacológica	55
Gráfico 7. Nível de colonização de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa na flora nasal antes e após o tratamento termal.	59
Gráfico 8. Nível de colonização de <i>S. aureus</i> na flora nasal antes e após o tratamento termal.....	60
Gráfico 9. Nível de colonização de <i>Streptococcus</i> α -hemolíticos na flora nasal antes e após o tratamento termal.	64
Gráfico 10. Nível de colonização de <i>Neisseria</i> spp. na flora da nasal antes e após o tratamento termal.	66
Gráfico 11. Nível de colonização de <i>Neisseria</i> spp. na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal.	66
Gráfico 12. Nível de colonização de bacilos Gram positivo na flora nasal antes e após o tratamento termal	67
Gráfico 13. Colonização de <i>S. aureus</i> de acordo com a atopia.	82

Índice de tabelas

Tabela 1. Concentração de Ig E específica e estratificação do grau de anafilaxia.	42
Tabela 2. Valores de referência para todos os análises.....	43
Tabela 3. Período de inflamação de acordo com a patologia respiratória.....	54
Tabela 4. Descrição da colonização nasal do número total de indivíduos antes e depois do tratamento termal.	57
Tabela 5. Descrição da colonização orofaríngea do número total de indivíduos antes e depois do tratamento termal.	58
Tabela 6. Nível de colonização de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa na flora da orofaringe antes e após do tratamento termal.	60
Tabela 7. Nível de colonização de <i>S. aureus</i> na flora da orofaringe antes e após tratamento termal.	61
Tabela 8. Nível de colonização de <i>Streptococcus</i> α -hemolíticos na orofaringe antes e após o tratamento termal.....	65
Tabela 9. Nível de colonização de Bacilos Gram positivo na flora da orofaringe antes e após do tratamento termal.....	68
Tabela 10. Variação da média do número total de células do sangue periférico de indivíduos portadores e não portadores de <i>S. aureus</i> com rinite alérgica antes e após o tratamento termal.	72
Tabela 11. Variação da média do número total das células do sangue periférico em indivíduos portadores e não portadores de <i>S. aureus</i> com CRS antes e após tratamento termal.....	73
Tabela 12. Média dos parâmetros inflamatórios dos 106 indivíduos incluídos no estudo... ..	78
Tabela 13. Média dos parâmetros inflamatórios dos 100 doentes com colonização bacteriana divididos por portadores e não portadores de <i>S. aureus</i>	80
Tabela 14. Caracterização da amostra segundo a atopia.	82
Tabela 15. Média da concentração de Ig E total antes e após tratamento termal em indivíduos atópicos e não atópicos, portadores e não portadores de <i>S. aureus</i>	83
Tabela 16. Diminuição da concentração de Ig E total em indivíduos atópicos e não atópicos, portadores e não portadores de <i>S. aureus</i>	84

Índice de abreviaturas

APC – Células apresentadoras de antígeno

ARIA – *Allergic rhinitis and Its Impact on Asthma*

CD40L – CD40 ligando

Células T $\gamma\delta$ – células T gama delta

COS – Gelose de sangue

CRS – Rinossinusite crónica

CRSsNP – Rinossinusite crónica sem pólipos nasais

CRSwNP – Rinossinusite crónica com pólipos nasais

DC – Células dendríticas

ECP – Proteína catiónica eosinofílica

Fab – Fração variável

Fc – Fração constante

Fc ϵ RI - Recetor de alta afinidade para a porção Fc da imunoglobulina E

GN – Gram negativo

ICAM-1- Molécula de adesão intercelular-1

Ig – Imunoglobulina

IL – Interleucina

INF- γ – Interferon gama

MBL – Lectina de ligação à manose

MC – Mastócito

MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos-1

MCP-3 - Proteína quimiotática de monócitos-3

MHC – Complexo major de histocompatibilidade

MRSA – *Staphylococcus aureus* metilina resistentes

PAF – Fator de ativação plaquetar

PC – Plasmócito

PCR – Proteína C reativa

PVX – Gelose de chocolate Polivitex

SE - Enterotoxinas

Spa – *Sanus per aqua*; Saúde pela água.

SPSS – *Statistical Package for the Social Science*

TCR – Recetor celular das células T

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

VCAM-1 – Moléculas de adesão celular vascular.

VS – Velocidade de sedimentação

I. Introdução

1.1 Água mineral natural

Por definição, a água mineral natural é a água de circulação subterrânea, considerada bacteriologicamente própria, com características físico-químicas estáveis na origem, dentro das flutuações naturais. Estas águas têm de ser provenientes de uma nascente reconhecida por uma entidade oficial, isenta de qualquer tipo de tratamento que altere as suas características naturais, devendo estar livre de qualquer contaminação (Petraccia *et al.*, 2006; IPQ, 2010).

1.1.1 Propriedades físico-químicas

As características das águas minerais naturais estão dependentes da litologia do local, da interação água/rocha, do tempo de residência, da temperatura e pressão a que estão sujeitas (IPQ, 2010). Dependendo destes fatores, estas águas podem classificar-se de acordo com a temperatura de emergência, o pH, o potencial redox, a radioatividade e a sua composição química (Pereira, 1991; IPQ, 2010).

Quanto à temperatura de emergência podem dividir-se em: hipotermiais (<25°C), mesotermiais (25 - 35°C), termiais (35 - 40°C) e hipertermiais (> 40°C) (Pereira, 1991; IPQ, 2010).

De acordo com o pH, estas águas são classificadas como ácidas, se o pH for inferior a 7, neutras quando o pH é igual a 7 e alcalinas caso o pH seja superior a 7 (Pereira, 1991; IPQ, 2010).

O potencial redox está intimamente relacionado com o pH das águas. A pH 7 consideram-se águas redutoras aquelas que apresentarem um potencial redox inferior a 0,4V e oxidantes as que tiverem um potencial redox superior a 0,4V.

A radioatividade destas águas está relacionada com a atividade do gás radão dissolvido. O radão é um gás incolor e inodoro, muito mais denso que o ar, que resulta da desintegração radioativa do urânio. Quando a atividade deste gás dissolvido na água for superior a 5 nanocuries/litro, a água é considerada radioativa (Pereira *et al.*, 2001; IPQ, 2010). Para além do radão, existem outros gases que podem estar presentes de forma natural nestas águas, como o H₂S e o CO₂ (Amaral, 2010).

No que diz respeito à composição química, as águas termais podem classificar-se segundo a mineralização total, aniões e catiões predominantes e a presença de certas espécies em quantidades vestigiais (Pereira, 1991; IPQ, 2010).

Quanto à mineralização total dividem-se em: hipossalinas (mineralização inferior a 200mg/l); fracamente mineralizadas (mineralização entre 200 -1000 mg/l); mesossalinas (mineralização entre 1000 – 2000mg/l); e hipersalinas (mineralização superior a 2000mg/l) (Pereira, 1991, IPQ, 2010).

Dada a escassa mineralização das águas hipossalinas, é irrelevante falar dos iões predominantes. No entanto, as restantes águas podem ser decompostas nos seus aniões e catiões predominantes. Desta forma, de acordo com os aniões, estas águas podem denominar-se: carbonatadas, bicarbonatadas, cloretadas e sulfatadas; e de acordo com os catiões: sódicas, cálcicas ou mistas (Pereira, 1991, IPQ, 2010).

Em relação à presença de espécie vestigiais, estas águas são designadas por: sulfúreas, na presença do ião HS^- ; sulfídricas, quando possuem o ácido H_2S livre e tiosulfato; férreas, quando exibem um teor do ião Fe^{2+} superior a 3mg/l; alumínicas, em que o teor do ião Al^{3+} é superior a 1mg/l; fluoretadas, quando os níveis do ião fluoreto são superiores a 1mg/l; silicatadas, quando contêm um valor de SiO_2 superior a 100mg/l; litiadas apresentando uma concentração de lítio superior a 3mg/l; e por fim as arsenicais, que apenas contêm vestígios de arsénio na sua composição (Pereira, 1991; IPQ, 2010).

1.1.2 Modalidades de utilização

Não se pode falar das várias modalidades de utilização dos diferentes tipos de água mineral natural sem distinguir os conceitos de hidroterapia, balneoterapia e Spa (Amaral, 2010).

A hidroterapia consiste na utilização externa de água corrente para fins terapêuticos, utilizando propriedades físicas como a temperatura, pressão hidrostática, hidrodinâmica, viscosidade e condutividade (Tamás B *et al.*, 2005; Gutenbrunner C *et al.*, 2010). A balneoterapia utiliza águas minerais naturais para o tratamento de diversas patologias (Tamás *et al.*, 2005; Gutenbrunner *et al.*, 2010). O Spa engloba a hidroterapia, balneoterapia, tratamento de lamas, exercício físico ativo, massagens e

dietas, num ambiente de férias, longe do stress quotidiano (Amaral, 2010; Gutenbrunner *et al.*, 2010).

As principais modalidades realizadas nas estâncias termais são o banho, a hidropinia, e a inalação.

O banho consiste na imersão do corpo, excetuando a cabeça ou determinadas partes do corpo em água (Amaral, 2010). Moléculas inorgânicas como ião sulfato, cálcio, bicarbonato, ferro, sódio, CO₂, sulfureto, radão e iodo penetram através da pele, seguem para o sangue através do sistema linfático, onde mais tarde podem ser utilizados. Contudo, esta passagem depende da concentração daqueles presentes na água, da temperatura e o tempo de contacto da água com a superfície cutânea (Pereira, 1991)

A hidropinia é uma modalidade utilizada no tratamento de distúrbios gastrointestinais, metabólicos e renais através da ingestão de água mineral natural. O suplemento de minerais destas águas também apresenta um papel importante no tratamento (Amaral, 2010; Gutenbrunner *et al.*, 2010).

A inalação de água termal é indicada para a terapêutica de afeções do trato respiratório, permitindo remover secreções, promover a *clearance* mucociliar e assim melhorar a função respiratória (Gutenbrunner *et al.*, 2010; Salami *et al.*, 2010)

Para além destas modalidades, existem outras como a inalação de vapores de infusões de plantas, duches (por exemplo duche circular e de Vichy), jatos de água, jacúzi e exercício físico subaquático (Van Tubergen *et al.*, 2002; IPQ, 2010; Gutenbrunner *et al.*, 2010)

De forma a complementar o tratamento, os Spa's oferecem massagem, saunas, piscinas e solário com o objetivo de relaxar e reforçar o corpo e a mente (Van Tubergen *et al.*, 2002).

1.1.3 Efeitos terapêuticos

As águas minerais naturais são conhecidas pelas diversas qualidades terapêuticas principalmente na prevenção, reabilitação e tratamento de diversas doenças, como, patologias cutâneas, respiratórias, digestivas, urinárias, músculo-esqueléticas, nervosas, metabólico-endócrinas e circulatórias (Pereira, 1991). Contudo, o tratamento de cada

doença específica está dependente das propriedades terapêuticas de cada água, bem como a modalidade aplicada em cada caso.

A ingestão de águas bicarbonatadas pode neutralizar a secreção ácida, provocar a libertação de péptidos gástricos (como gastrina e endorfinas) e acelerar o esvaziamento do estômago. Estas águas são indicadas como terapêutica em indivíduos com hipersecreção de ácido clorídrico e doença do refluxo gastroesofágico. As águas sulfatadas também estão indicadas para o tratamento de distúrbios digestivos, uma vez que estimulam a mobilidade gastrointestinal (Petraccia *et al.*, 2006).

As águas sulfato-bicarbonatadas são usadas para o tratamento de patologias da vesícula biliar e síndrome pós-colecistectomia (Petraccia *et al.*, 2006).

As águas ricas em cálcio são aconselhadas aos indivíduos que necessitam de um suplemento de cálcio, como por exemplo, crianças, grávidas, idosos, mulheres em menopausa, e indivíduos com osteoporose (Petraccia *et al.*, 2006).

As águas ferrosas são utilizadas para o tratamento da anemia ferropénica e hipertiroidismo (Petraccia *et al.*, 2006).

As águas sulfurosas são indicadas para a diabetes, uma vez que reduzem a glicemia, polidipsia, poliúria, assim como a necessidade de insulina diária. Deste modo, é necessário rever o tratamento com insulina após o tratamento. Estas águas também foram descritas para o tratamento da fibromialgia, patologias cutâneas e rinossinusite crónica (CRS) (Petraccia *et al.*, 2006; Bellometti, 2009).

As águas sulfurosas, salinas, brômicas, iodadas, sulfatadas e bicarbonatadas estão aconselhadas para o tratamento de patologias reumáticas como, osteoartrite, reumatismos degenerativos e respiratórias como, rinite crónica, sinusite crónica, rinite vascular, laringite crónica, faringite crónica (Bellometti, 2009).

Para além dos diversos efeitos terapêuticos destas águas, a distância física e emocional dos problemas e da rotina do dia-a-dia diminui o stress trazendo benefícios, tanto para a patologia a tratar, como para o próprio bem-estar geral. Por exemplo, Naser Moaddeli e Kagamimori (2005), descreveram um estudo no qual se observou que a diminuição do stress reduz a atividade da artrite reumatóide.

Independentemente dos benefícios específicos de cada água termal, diferentes estudos têm demonstrado que esta terapêutica é eficaz a curto/médio prazo, e contribui para a diminuição da taxa de hospitalização e a sua duração, decréscimo do absentismo laboral e da medicação específica para a patologia (Coccheri *et al.*, 2008; Bellometti, 2009).

1.1.4 Contraindicações

Apesar do elevado efeito terapêutico destas águas em diversas patologias, estas também apresentam contraindicações gerais e específicas de cada água (Pereira, 1991).

As contraindicações gerais à balneoterapia são as afeções agudas ou em período de atividade, à exceção do eczema (Pereira, 1991). Na presença de processos infecciosos ou inflamatórios agudos, como a tuberculose evolutiva, processos tumorais malignos, insuficiência renal e cirrose hepática, é desaconselhado o tratamento termal (Pereira, 1991).

As contraindicações específicas do tratamento termal devem-se ao erro na escolha do tipo de água a utilizar para determinada patologia, bem como nas modalidades aplicadas (Pereira, 1991). Deste modo, o conhecimento das características da água a prescrever é tão importante como o conhecimento científico do princípio ativo de qualquer fármaco. Por exemplo, a ingestão de águas ricas em sódio pode ser perigosa para indivíduos hipertensos e insuficientes cardíacos (Pereira, 1991).

Para além das contraindicações específicas, durante o tratamento termal pode ocorrer a designada crise termal. A crise termal é uma fase de agravamento da patologia ou dos sintomas, por um período limitado de tempo que pode afetar, por um lado o estado geral do doente e, por outro, a própria doença. Geralmente, a crise termal tem início ao fim de 5 a 6 dias de tratamento e desaparece gradualmente na 2ª semana, no entanto, pode ser tão violenta que obrigue à interrupção do tratamento (ATP, 2011).

1.1.5 Nascentes termais estudadas

As nascentes termais em Portugal situam-se no Maciço Hespérico, orla Mesozoica Ocidental e Meridional. As emergências termais em estudo neste trabalho (Almeida, Cró, Longroiva e Manteigas) localizam-se no interior do Maciço Hespérico. Do ponto de vista químico, as águas presentes no Maciço Hespérico são bicarbonatadas/cloretadas, predominantemente sulfúreas, caracterizadas pela presença de formas reduzidas de enxofre, elevados teores em sílica e de ião flúor e pH elevados (IPQ, 2010).

As termas de Almeida utilizam uma água mineral natural sulfúrea, bicarbonatada, sódica e fracamente mineralizada, com indicações terapêuticas no tratamento de doenças do foro respiratório, osteoarticular e músculo-esquelético (ATP, 2011).

As águas das termas do Cró qualificam-se como fracamente mineralizadas, bicarbonatadas, sódicas e sulfúreas. Estas águas estão recomendadas na terapêutica de doenças reumáticas, músculo-esqueléticas, respiratórias e cutâneas (ATP, 2011).

As águas termais de Longroiva caracterizam-se como sulfúreas, bicarbonatadas, sódicas e fracamente mineralizada. Estas águas são indicadas para o tratamento de patologias osteoarticulares, músculo-esqueléticas e respiratórias (ATP, 2011).

As termas de Manteigas são conhecidas pelas suas águas hipossalinas, bicarbonatadas sódicas, sulfúreas e fluoretadas, sendo documentadas na terapêutica de afecções do trato respiratório e patologias reumáticas e músculo-esqueléticas (ATP, 2011).

1.1.6 Técnicas de aplicação de água termal no trato respiratório – técnicas termais de Otorrinolaringologia (ORL)

As técnicas termais de ORL consistem na administração de água mineral natural com o objetivo de tratar a mucosa do aparelho respiratório e auditivo, e minimizar as alterações funcionais existentes. As principais técnicas utilizadas nas termas estudadas são a irrigação nasal, pulverização faríngea, nebulização individual e aerossol sónico.

A irrigação nasal é uma técnica indicada para o tratamento de rinites e baseia-se na circulação de água termal de uma narina para a outra, contornando o septo com a ajuda da força de gravidade. A cada litro de água termal, adiciona-se 7 ou 8 g de cloreto de sódio, com o objetivo de isotonzar a água e impedir o congestionamento da mucosa. A irrigação nasal permite um contacto prolongado da mucosa com a água termal, melhorando as patologias do trato respiratório (ATP, 2011).

A pulverização faríngea destina-se ao tratamento de faringites crónicas. Esta técnica consiste na projeção de um jacto de água termal pulverizada contra a parede faríngea, véu do palato e região amigdalina (ATP, 2011).

A nebulização individual é uma técnica recomendada para o tratamento de doenças do trato respiratório superior e consiste na inalação pelo nariz e boca, através de uma máscara individual, do gás, vapores e partículas da água termal previamente fracionada pela projeção vigorosa contra as paredes do equipamento (ATP, 2011).

O aerossol sónico é indicado como terapêutica para a bronquite crónica e asma. Esta técnica também é realizada com ajuda de uma máscara individual e permite uma maior penetração das partículas no trato respiratório, uma vez que a sua difusão é acelerada pela energia transmitida pelos ultrassons intercalados no seu trajeto (ATP, 2011). A principal diferença entre o aerossol sónico e a nebulização individual é o tamanho das partículas inaladas e presença de ultrassons.

1.2 Patologias do trato respiratório

O aparelho respiratório desempenha importantes funções no nosso organismo, tais como, as trocas gasosas, controlo do pH sanguíneo, fonação e olfato, sendo dividido em duas partes: o trato respiratório superior e inferior (Saladin e Van Wynsberghe, 2001; Seeley *et al.*, 2005).

O estudo descrito neste trabalho, incidiu sobre duas patologias do trato respiratório superior, nomeadamente, a rinite alérgica e CRS.

1.2.1 Trato respiratório superior

O trato respiratório superior é formado pelas fossas nasais, faringe e estruturas associadas (Seeley *et al.*, 2005).

As fossas nasais são o espaço compreendido entre as narinas e as coanas. À entrada das fossas nasais encontra-se o vestíbulo, revestido por epitélio escamoso estratificado e pelos que permitem filtrar as partículas de maior dimensão. Nas paredes laterais da cavidade nasal existem os cornetos superior, médio e inferior. Entre cada corneto, existe uma estreita passagem de ar designada meato. Nos meatos superior e médio situam-se as aberturas dos diversos seios perinasais. No meato inferior abre-se o canal lacrimo-nasal (Saladin e Van Wynsberghe, 2001; Seeley *et al.*, 2005).

Os cornetos, forrados por uma mucosa constituída por epitélio cilíndrico pseudoestratificado ciliado com células calciformes produtoras de muco, retêm todas as partículas e microrganismos não filtrados pelos pêlos nasais. Para além disso, a mucosa da cavidade nasal, consegue aquecer e humidificar o ar inalado através do contacto com a mucosa altamente vascularizada, bem como, o epitélio mucoso e o excesso de produção de lágrimas, respetivamente. Na porção superior da cavidade nasal encontra-se a mucosa olfativa, muitas vezes afetada na rinossinusite (Seeley *et al.*, 2005).

Além dos mecanismos de defesa anteriormente descritos, existem, por um lado, a tosse e os espirros, como reflexos de limpeza das vias respiratórias superiores e, por outro, as amígdalas e os órgãos linfoides responsáveis pela resposta imunológica contra os microrganismos (Seeley *et al.*, 2005; Chamberlain, 2009).

A maioria das superfícies do trato respiratório superior é colonizada por flora comensal, como, *Streptococcus* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Corynebacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Mycoplasma* spp., *Leptotrichia* spp., *Veillonella* spp., *Actinomyces* spp. e *Fusobacterium* spp. (Cazzolla *et al.*, 2006; Chamberlain, 2009). Esta flora comensal apresenta duas funções principais: competir com bactérias patogénicas pelos locais de fixação e sintetizar substâncias bactericidas, prevenindo, desta forma, a infeção por microrganismos patogénicos (Chamberlain, 2009).

Muitas destas bactérias em condições particulares, como a quebra do equilíbrio habitual ou acesso a regiões estéreis, podem tornar-se patogénicas (Ferreira e Sousa, 2000).

1.3 Rinite alérgica

O desenvolvimento e a expressão fenotípica da doença alérgica das vias respiratórias depende da interação complexa entre fatores genéticos e ambientais, tais como exposição a certos alimentos, alérgenos inalantes e fatores menos específicos, como, o fumo do tabaco, poluição atmosférica e infeções (Halken, 2003; Wang, 2011).

As doenças alérgicas representam um grande problema de saúde no século XXI afetando quase um quarto da população mundial (Wang, 2011). A rinite alérgica é uma das doenças atópicas mais comuns em todo o mundo (Greiner *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2011).

Dentro desta temática é importante definir, desde logo, a diferença entre alergia e atopia. A alergia define-se como uma reação exagerada a antígenos provenientes do meio ambiente (alérgenos). Esta reação acontece em determinados indivíduos, surgindo normalmente minutos após o contacto – a designada reação de hipersensibilidade tipo I. Na maioria dos casos, esta reação é mediada pela imunoglobulina E (Ig E) específica para os alérgenos desencadeadores. Contudo, a alergia também envolve uma reação tardia, consistindo numa forma de hipersensibilidade tipo IV. Por outro lado, a atopia é a predisposição genética ou familiar para a produção de Ig E em excesso, em resposta a um estímulo alérgico (Arosa *et al.*, 2007).

1.3.1 Epidemiologia

Segundo o estudo Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA), a rinite alérgica, afeta mais de 500 milhões de pessoas, cerca de 10 a 20% da população mundial (Brozek *et al.*, 2010). A prevalência desta doença tem aumentado rapidamente nas últimas décadas e tornando-se um grande problema de saúde em países desenvolvidos (Todo-Bom *et al.*, 2007; Bousquet *et al.*, 2008a; Mucci *et al.*, 2011).

O European Community Respiratory Health Survey I documentou uma grande diversidade na prevalência desta patologia, em indivíduos adultos, em vários países europeus como Espanha (8,3%), Itália (14,4%), Bélgica (16,4%), Reino Unido (21,3%) e França (22,7%) (Bousquet *et al.*, 2008b). Segundo um estudo realizado pela Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica envolvendo 6859 indivíduos, estima-se que a prevalência em Portugal seja de 26,1% (Todo-Bom *et al.*, 2007)

A maioria dos casos de rinite inicia-se na infância ou na adolescência em resposta a um alérgeno inalante mediada por Ig E (Lourenço *et al.*, 2009). Apesar de esta doença afetar todas as idades, a prevalência e grau de sensibilização a aeroalérgenos atinge o pico em adultos jovens e diminui com a idade (Halken, 2003; Greiner *et al.*, 2011; Karabulut *et al.*, 2011).

A rinite alérgica tem um impacto adverso na vida social, no rendimento escolar e/ou na produtividade laboral e na qualidade do sono, principalmente em crianças e adultos com doença severa (Kemp, 2009; Brozek *et al.*, 2010; Greiner *et al.*, 2011).

1.3.2 Definição

A rinite alérgica é definida como uma inflamação da mucosa nasal mediada por IgE, sendo caracterizada pelos seguintes sintomas: rinorreia anterior ou posterior, espirros, obstrução/congestão nasal e prurido (Todo-bom *et al.*, 2007; Bousquet *et al.*, 2008a; Lourenço *et al.*, 2009; Tran *et al.*, 2011). Outros sintomas também são frequentemente associados, tais como, comichão ocular, lacrimejo, dor de cabeça, dor de ouvidos, sibilos, dispneia, tosse, fadiga e irritabilidade (Naclerio *et al.*, 2010; Tran *et al.*, 2011; Karabulut *et al.*, 2011; Mucci *et al.*, 2011).

Tradicionalmente, a rinite alérgica pode ser classificada em sazonal (também conhecida por febre dos fenos) e perene, de acordo com a exposição a alérgenos sazonais, dependentes de fontes polínicas e perenes, presentes todo o ano, respetivamente. Contudo, esta classificação não é inteiramente satisfatória (Greiner *et al.*, 2011).

Recentemente, a ARIA elaborou uma nova classificação, caracterizando a rinite alérgica como intermitente ou persistente e ligeira ou moderada a severa (Bousquet *et al.*, 2008a; Greiner *et al.*, 2011). A rinite é considerada intermitente quando os sintomas persistem menos de 4 dias por semana ou menos de 4 semanas consecutivas, e persistente quando os sintomas permanecem mais de 4 dias por semana ou mais de 4 semanas consecutivas (Todo-Bom *et al.*, 2007).

Atualmente, diversos estudos demonstram que esta patologia está frequentemente associada à asma e a outras condições como CRS, rinoconjuntivite, otite média e apneia do sono (McPhee e Hammer, 2006; Valero *et al.*, 2009; Greiner *et al.*, 2011; Mucci *et al.*, 2011).

1.3.3 Fisiopatologia

A fisiopatologia de uma doença alérgica atópica desenvolve-se em duas fases: a fase de sensibilização e a fase de contacto secundário, envolvendo diferentes tipos celulares e um largo espectro de agentes biologicamente ativos como histamina, citocinas, quimiocinas, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), moléculas de adesão celular, entre outras (Arosa *et al.*, 2007; Naclerio *et al.*, 2010).

O alérgénio, na maioria dos casos uma proteína, ao contactar com a mucosa nasal é capturado, endocitado e digerido pelas células apresentadoras de antígeno (APCs) aí presentes, como macrófagos e células dendríticas (Arosa *et al.*, 2007; Rondón *et al.*, 2010). Estas células possuem a capacidade de migrar para tecidos linfoides drenantes e tecidos linfoides associados às mucosas (Arosa *et al.*, 2007). Nos gânglios linfoides, as APCs vão apresentar os péptidos degradados através do complexo major de histocompatibilidade de classe II (MHC II) aos linfócitos Th2 CD4⁺ *naive* (Figura 1) (Mucci *et al.*, 2011). Como resultado desta interação, as células Th2 CD4⁺ são ativadas e proliferaram, iniciando a produção de citocinas (Arosa *et al.*, 2007).

Os linfócitos Th2 têm um papel chave na iniciação da resposta alérgica pela libertação de interleucina (IL) 4, 5 e 13 e interação do CD40L (ou CD154) do linfócito T ao CD40 presente nas células B (Rondón *et al.*, 2010; Stone *et al.*, 2010; Greiner *et al.*, 2011). Este processo permite a mudança/“switch” do isótipo da imunoglobulina através da recombinação somática seletiva da região da cadeia pesada (Rondón *et al.*, 2010; Stone *et al.*, 2010). Desta forma, um grande número de células B com a mesma especificidade das células T CD4⁺, vão começar a sintetizar Ig E específica para aquele antígeno.

De seguida, a Ig E é libertada para a circulação sanguínea e vai ligar-se a recetores de alta especificidade (Fc ϵ RI) expressos pelos mastócitos, monócitos, basófilos, macrófagos e células dendríticas, pela sua porção Fc (Arosa *et al.*, 2007; Greiner *et al.*, 2011; Amin, 2012). A porção Fab fica livre para a ligação ao antígeno (Amin, 2012).

Os mastócitos têm um papel fundamental nos processos alérgicos (Arosa *et al.*, 2007; Stone *et al.*, 2010). Em condições normais, aos recetores FcεRI encontram-se ligadas inúmeras moléculas de Ig E de múltiplas especificidades. Contudo, à medida que vai aumentando o nível de Ig E, resultante da mudança/”switch” previamente referida, uma proporção progressivamente maior destas moléculas vão ocupando os recetores FcεRI dos mastócitos. Este facto aumenta a probabilidade de duas moléculas Ig E adjacentes, reconhecerem epítomos do mesmo antígeno e conduzir à ativação dos mastócitos (Figura 1) (Arosa *et al.*, 2007; Amin,2012). Um processo semelhante ocorre também nos basófilos (Amin, 2012).

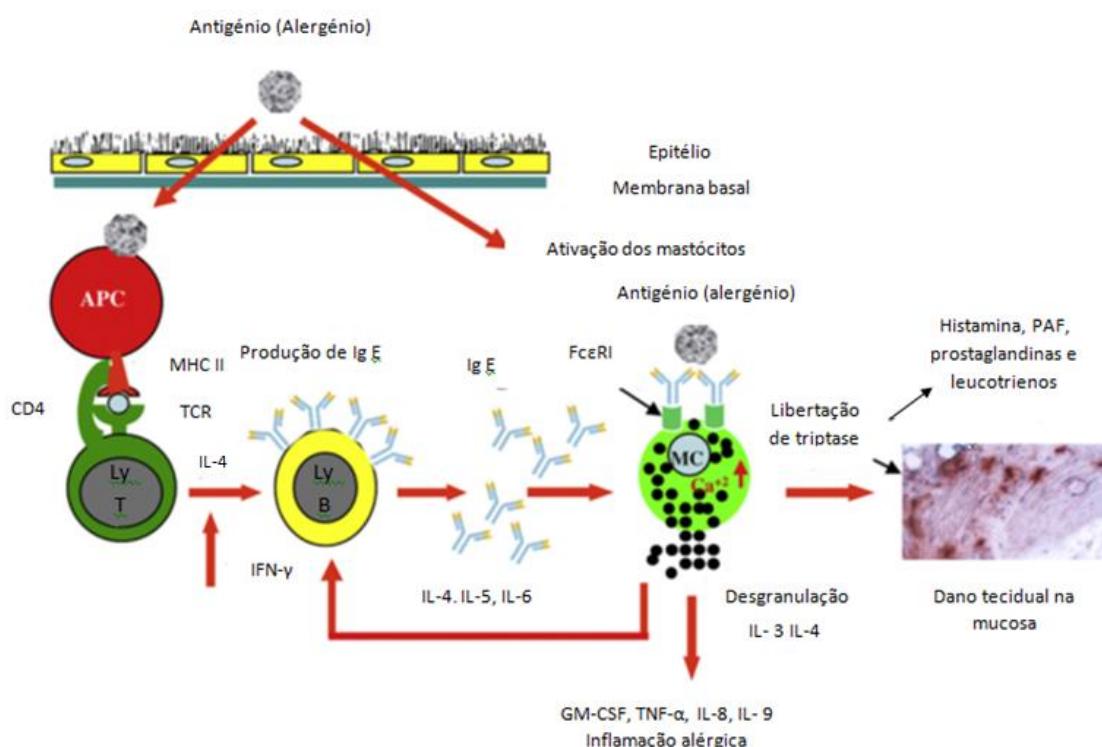


Figura 1. Indução e mecanismos efetores de uma resposta de hipersensibilidade tipo I. APC= célula apresentadora de antígeno MC= Mastócito. Adaptado de Amin (2012).

Para além de estarem ligadas à proliferação e diferenciação de células B e consequente produção de Ig E, a IL-4 e IL-13 contribuem para a migração transendotelial de eosinófilos e linfócitos T, ao aumentarem a expressão de moléculas de adesão (VCAM-1), a nível do endotélio onde está a ocorrer a inflamação alérgica (Arosa *et al.*, 2007). Por outro lado, a IL-5 está intimamente associada com o desenvolvimento, diferenciação e sobrevivência dos eosinófilos (Greiner *et al.*, 2011; Amin,2012). Estas células são um marcador de doença alérgica, particularmente da rinite alérgica e asma, podendo coexistir uma ligeira eosinofilia no sangue periférico

com um grande número de eosinófilos nas secreções nasais, septo e lavado broncoalveolar (Stone *et al.*, 2010).

Com a produção de Ig E específica e o recrutamento de eosinófilos e linfócitos T, dá-se por concluída a fase de sensibilização atópica.

A fase de contacto secundário pode subdividir-se em duas respostas: a precoce e a tardia. A resposta precoce (Figura 2) dá-se poucos minutos depois da exposição ao estímulo antigénico para o qual o indivíduo está sensibilizado. Nesta fase, volta a haver um processamento antigénico idêntico ao realizado na fase de sensibilização. Contudo, como já existe uma elevada concentração de Ig E específica para aquele antigénio, na superfície dos mastócitos ocorre a agregação de duas ou mais moléculas de Ig E, provocando a ativação e a consequente desgranulação. A desgranulação destas células leva à libertação de diversos mediadores como, histamina, triptase, leucotrienos, citocinas (IL-4, 5, 6 e TNF- α), fatores quimiotáticos, fator de ativação plaquetar (PAF) e prostaglandinas (Quraishi *et al.*, 2004; Naclerio *et al.*, 2010). Estes mediadores contribuem para os sintomas iniciais da rinite alérgica como o prurido, espirros e rinorreia, bem como, para a estimulação da produção, adesão e infiltração de leucócitos, especialmente eosinófilos (Quraishi *et al.*, 2004; Stone *et al.*, 2010),

A histamina é responsável pelo aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e hipersecreção das glândulas (Karabulut *et al.*, 2011). Para além dos mastócitos, a histamina pode ser libertada pelos basófilos, sendo o principal mediador presente nos grânulos destas células (Stone *et al.*, 2010).

A triptase é o principal componente dos grânulos secretores dos mastócitos (Schwartz, 2006). Esta enzima é considerada um marcador de desgranulação dos mastócitos na mastocitose e anafilaxia (Schwartz, 2006). O pico de libertação da triptase dá-se uma hora depois da reação anafilática, podendo os seus níveis manterem-se elevados durante várias horas, ao contrário da histamina (Stone *et al.*, 2010).

A libertação de citocinas e leucotrienos causa a migração de células inflamatórias, principalmente de eosinófilos para a área afetada (Karabulut *et al.*, 2011). A IL-5 e IL-6, tal como a IL-4, intervêm na estimulação, na proliferação e na diferenciação de células B ativadas e induzem o “switch” de Ig (Amin, 2012). Por outro lado, os leucotrienos facilitam a maturação de precursores eosinofílicos e funcionam como quimiotáticos para estas células, promovendo a sua adesão e inibindo a apoptose (Kemp, 2009).

Histologicamente, esta fase caracteriza-se por permeabilidade vascular, vasodilatação, edema tecidual e ligeiro infiltrado celular de granulócitos (McPhee e Hammer, 2006).

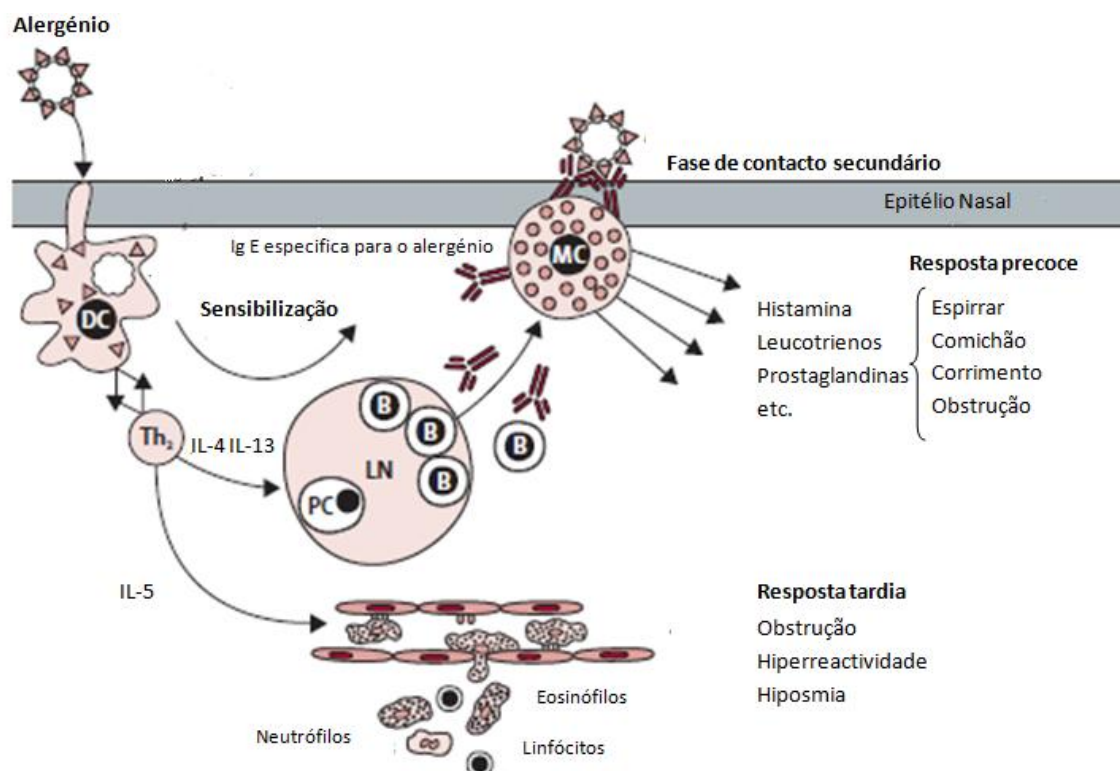


Figura 2. Fisiopatologia da rinite alérgica. DC= célula dendrítica; MC= Mastócito; PC= Célula do Plasma; Th₂= Linfócito T helper 2; B= células B. Adaptado de Greiner *et al.*, 2011.

A resposta de fase tardia (Figura 2) é uma resposta puramente celular e inicia-se duas a quatro horas após o estímulo alérgico (Quraishi *et al.*, 2004). Nesta fase, como resultado da libertação de citocinas e mediadores inflamatórios, a mucosa nasal é infiltrada por células inflamatórias, com a presença de eosinófilos, linfócitos T, neutrófilos e basófilos que sustentam o edema tecidual e exacerbam a congestão/obstrução nasal, principal sintoma desta fase (Naclerio *et al.*, 2010; Quraishi *et al.*, 2004). Estas células podem continuar a sintetizar citocinas e mediadores inflamatórios e perpetuar a resposta de fase tardia, levando à hiper-reatividade sustentada, hipersecreção de muco, produção de Ig E, eosinofilia e destruição tecidual (McPhee e Hammer, 2006).

Os eosinófilos são o tipo celular mais abundante no processo de inflamação crónica que caracteriza a resposta de fase tardia (Naclerio *et al.*, 2010). Os eosinófilos ativos libertam uma ampla gama de mediadores inflamatórios como leucotrienos, proteína catiónica eosinófila (ECP), peroxidase eosinófila e proteína básica major (Naclerio *et al.*, 2010). Esta última e a ECP são capazes de destruir o tecido epitelial das vias respiratórias o que predispõe a uma reatividade persistente (McPhee e Hammer, 2006).

O recrutamento de eosinófilos e células inflamatórias para a mucosa nasal é resultado, em grande parte, da produção de quimiocinas ativas e expressão moléculas de adesão (McPhee e Hammer, 2006).

Dentro das quimiocinas, pode distinguir-se a subfamília CC-quimiocinas que inclui os RANTES, MCP-1, MCP-3 e eotaxina, cujas principais funções consistem no recrutamento de células inflamatórias como eosinófilos, mastócitos, basófilos, monócitos e macrófagos (McPhee e Hammer, 2006; Arosa *et al.*, 2007).

Por outro lado, o TNF- α é considerado o mediador inflamatório chave na resposta de fase tardia e os níveis desta citocina encontram-se dramaticamente elevados uma hora após exposição antigénica. Esta citocina está envolvida na ativação de células T, células endoteliais, fibroblastos e macrófagos para expressarem recetores celulares e libertarem citocinas inflamatórias adicionais. O TNF- α também aumenta a expressão de moléculas como, as moléculas de adesão intercelulares 1 (ICAM-1) e moléculas de adesão de células vasculares 1 (VCAM-1), permitindo, desta forma, a adesão dos leucócitos ao endotélio, a transmigração através da parede dos vasos e a migração ao longo do gradiente quimiotático até ao tecido afetado (Naclerio *et al.*, 2010).

Desta forma, verifica-se que a presença de Ig E específica e eosinofilia nasal é uma das características típicas da rinite alérgica, distinguindo-a de outras doenças alérgicas (Greiner *et al.*, 2011).

1.3.4 Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se em quatro pontos principais: história clínica, exame físico, testes cutâneos por picada e quantificação de Ig E específica no soro (Arosa *et al.*, 2007; Bousquet *et al.*, 2008a; Mucci *et al.*, 2011).

Para além dos sintomas típicos da rinite alérgica como rinorreia, espirros, obstrução/congestão nasal e prurido, a existência de história familiar de exposição alérgica a aeroalergénios e a presença de sintomas sazonais são os principais fatores de diferenciação perante a rinite não-alérgica e defeitos anatómicos das vias respiratórias superiores (Mucci *et al.*, 2011).

Os testes cutâneos são amplamente utilizados para demonstrar uma reação alérgica de hipersensibilidade imediata mediada por Ig E e realizam-se com base no espectro de alergénios mais comuns da zona de residência dos doentes (Arosa *et al.*, 2007). A determinação da Ig E específica é um teste *in vitro*, importante no rastreio de doenças alérgicas (Mucci *et al.*, 2011), fornecendo resultados quantitativos de Ig E específica presente no soro do doente. O resultado positivo significa que foram detectados níveis quantificáveis de anticorpos IgE específicos para determinados alergénios.

Contudo, testes serológicos positivos por exemplo a alergénios inalantes não provam necessariamente que o alergénio seja a causa dos sintomas (Kemp, 2009). Desta forma, os resultados obtidos devem ser interpretados em conjunto com a história e exame clínico (Kemp, 2009).

Atualmente, já existem evidências de que a rinite alérgica pode predispor à CRS através da inflamação e consequente congestão e obstrução sinusal. A diminuição de ventilação nos seios perinasais conduz à disfunção do movimento ciliar, e consequentemente, ao decréscimo de transdução de fluidos e estagnação de muco, o que propícia o crescimento bacteriano (McPhee e Hammer, 2006; Greiner *et al.*, 2011).

1.3.5 Tratamento

A abordagem terapêutica da rinite alérgica engloba 4 tópicos fundamentais: a educação do doente, a prevenção do contacto com o alergénio, farmacoterapia e imunoterapia (Bousquet *et al.*, 2008a; Greiner *et al.*, 2011; Mucci *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2011).

A educação do doente consiste em fornecer ao mesmo todas as informações relevantes sobre a patologia, tais como, a natureza da doença alérgica, a probabilidade de progressão da doença, a necessidade de tratamento, bem como, os benefícios e efeitos adversos que possam advir da terapêutica. Os doentes também devem ser informados de possíveis medidas preventivas para aliviar os sintomas. Desta forma, o clínico consegue a confiança do doente e aumentar a adesão ao regime prescrito (Greiner *et al.*, 2011).

A prevenção do contacto com o alérgénio é uma abordagem de primeira linha eficaz para a redução de sintomas, uma vez que a rinite alérgica é induzida por alérgénios específicos (Mucci *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2011). Apesar de não ser possível evitar completamente o contacto com alguns alérgénios, como os pólenes, pó e fungos, a minimização do contacto pode originar efeitos benéficos (Arosa *et al.*, 2007).

A farmacoterapia desta patologia pode envolver diferentes grupos farmacológicos como, antihistamínicos, corticosteroides, descongestionantes, cromonas, antileucotrienos, anticolinérgicos e anticorpos monoclonais anti-Ig E (Bousquet *et al.*, 2008a; Greiner *et al.*, 2011; Mucci *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2011). Estes diferentes grupos de fármacos podem ser utilizados em separado ou em conjunto consoante a severidade dos sintomas. Dentro da terapêutica farmacológica, os grupos de fármacos mais efetivos são os corticosteroides e anti-histamínicos (Arosa *et al.*, 2007).

A imunoterapia alérgica define-se como a administração repetida de alérgénios específicos em doentes sensibilizados, fornecendo proteção contra os sintomas alérgicos e reações inflamatórias associadas à exposição natural ao alérgénio (Mucci *et al.*, 2011). Esta terapêutica deve ser considerada em doentes com sintomas moderados a severos ou em indivíduos em que a rinite alérgica coexista com a asma ou CRS. Atualmente, existem dois tipos de imunoterapia alérgica, a subcutânea e sublingual (Mucci *et al.*, 2011).

Apesar dos benefícios da terapêutica farmacológica e da imunoterapia, estas podem apresentar inúmeros efeitos secundários (Brozek *et al.*, 2010; Greiner *et al.*, 2011; Karabulut *et al.*, 2011), pelo que o tratamento termal surge como uma alternativa terapêutica eficaz.

1.4 Rinossinusite crónica

A CRS é uma das doenças mais comuns nos cuidados de saúde na Europa e nos Estados Unidos (Watelet *et al.*, 2007). Esta patologia é frequentemente associada a uma significativa diminuição da qualidade de vida e de produtividade, elevados custos para os cuidados de saúde e uma ameaça crescente de saúde pública dada a possibilidade de emergência de resistências bacterianas (Watelet *et al.*, 2007; Heymans *et al.*, 2010; Karuyawasam e Scadding, 2011; Feazel *et al.*, 2011).

1.4.1 Epidemiologia

Atualmente, estima-se que 12,5 a 16% da população dos Estados Unidos sofra desta patologia (Hamilos, 2011; Larson e Han, 2011). Na Europa, segundo o estudo GA²LEN, a prevalência de CRS é de 10,9% (Hastan *et al.*, 2011). Este mesmo estudo, reportou em Portugal, nomeadamente em Coimbra, uma prevalência de 27,1%.

1.4.2 Definição

O termo rinossinusite foi adotado por diversas *guidelines* em detrimento de sinusite, uma vez que, clinicamente a inflamação dos seios perinasais raramente ocorre sem coexistir a inflamação da mucosa nasal (Meltzer e Hamilos, 2011).

Deste modo, a rinossinusite é definida como uma inflamação do nariz e dos seios perinasais caracterizada por dois ou mais sintomas, um dos quais deve ser obstrução nasal ou rinorreia (anterior/posterior), \pm dor/pressão facial, \pm redução ou perda do olfato (Fokkens *et al.*, 2007; Hamilos, 2011; Karuyawasam e Scadding, 2011). Contudo, além destes sintomas podem existir outros associados, tais como, sonolência, mal-estar, fadiga, dor de dentes, irritação faríngea e laríngea, inflamação da garganta, e outros sinais e sintomas não específicos (Fokkens *et al.*, 2007; Rosenfeld *et al.*, 2007).

A rinossinusite é considerada crónica quando os sintomas persistem para além de 12 semanas sem resolução completa (Fokkens *et al.*, 2007; Karuyawasam e Scadding, 2011). Uma das consequências da CRS é a polipose nasal, podendo distinguir-se clinicamente como CRS com pólipos nasais (CRS_{swNP}) e CRS sem pólipos nasais (CRS_{ssNP}) (Van Crombruggen *et al.*, 2011).

1.4.3 Fisiopatologia

A fisiopatologia da CRS está ainda pouco caracterizada. Contudo, pensa-se que esta patologia seja multifatorial (Heymans *et al.*, 2010), ou seja, um amplo conjunto de fatores predispõem o desenvolvimento da CRS. A suscetibilidade genética, perfil imunológico, infecções, disfunção mucociliar, tabagismo, asma, alergia, deficiências anatómicas, problemas hormonais, fibrose quística, síndrome de Kartagener's e fatores ambientais são descritos como fatores envolvidos na fisiopatologia da CRS (Fokkens *et al.*, 2007; Staikūniene *et al.*, 2008; Heymans *et al.*, 2010; Hamilos, 2011; Payne *et al.*, 2011; You *et al.*, 2011)

Apesar de, atualmente, a estrutura dos seios ser bem compreendida, a função destes permanece desconhecida. No entanto, esta parece estar relacionada com produção óxido nítrico (Payne *et al.*, 2011). Este gás está presente em altas concentrações nos seios de indivíduos saudáveis e tem a capacidade de exercer efeito antimicrobiano, promovendo a esterilidade relativa e uma melhor *clearance* mucociliar (Jardeleza *et al.*, 2011). De notar que, indivíduos com CRS apresentam baixas concentrações deste gás nos seios perinasais (Jardeleza *et al.*, 2011).

O bom funcionamento dos seios perinasais depende de uma drenagem adequada do muco produzido e uma ventilação normal. Contudo, este processo pode ser facilmente comprometido pelo edema ou inflamação da mucosa nasal, muitas vezes coadjuvada pelos fatores anteriormente descritos, resultando um decréscimo do movimento ciliar, obstrução do óstio e uma drenagem reduzida (Payne *et al.*, 2011).

Quando as defesas falham, permitem a infeção por vírus respiratórios, tais como, rinovírus, vírus parainfluenza, vírus sincicial respiratório e adenovírus (Chamberlain, 2009). A infeção viral do trato respiratório superior é considerada precursora da rinosinusite bacteriana aguda por provocar a obstrução do óstio dos seios e diminuir a drenagem de secreções, despoletando o desenvolvimento de bactérias (Saladin e Van Wynsberghe, 2001; Salami *et al.*, 2008). Desta forma, a presença de vírus, bactérias e mediadores inflamatórios irá conduzir à produção de edema ao nível de mucosa, infiltração celular, muco espesso e infeção (Watelet *et al.*, 2007). Se esta infeção se prolongar por um período igual ou superior a três meses, sem remissão total dos sintomas, é considerada crónica.

Do ponto de vista biológico, apesar das semelhanças clínicas entre a CRSsNP e CRSwNP, estas patologias apresentam diferentes padrões inflamatórios (Watelet *et al.*, 2007). Enquanto a CRSwNP está intimamente relacionada com uma resposta Th2 e consequente inflamação eosinofílica e aumento de IL-5, proteína catiónica eosinofílica (ECP), eotaxina e Ig E (Watelet *et al.*, 2007; Van Crombruggen *et al.*, 2011), a CRSsNP é caracterizada por uma resposta Th1 com uma significativa inflamação neutrofílica associada à produção de citocinas por estes linfócitos, como, IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-3, IL-6 e IL-8 (Van Crombruggen *et al.*, 2011; Karuyawasam e Scadding, 2011).

Recentemente, vários estudos têm evidenciado uma íntima relação entre a CRS e a presença de bactérias (cerca de 32,5% a 96% dos casos) (You *et al.*, 2011). Diversas bactérias têm sido envolvidas na CRS, tais como, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus* coagulase negativa, *H. influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *M. catarrhalis*, e Enterobacteriaceae (Feazel *et al.*, 2011; Ikeda *et al.*, 2011; Larson e Han, 2011).

O género *Staphylococcus* pertence à família dos *Micrococcaeaceae*. Morfologicamente, são cocos Gram positivo caracteristicamente em forma de cacho, com diâmetro de 0,5 a 1,5 μ m, imóveis, capsulados e não esporulados (Ferreira e Sousa, 2000).

O *S. aureus* é uma bactéria frequentemente colonizadora da cavidade nasal de indivíduos caucasianos e a mais comum encontrada em culturas de exsudados nasais de indivíduos com CRS (Clark *et al.*, 2011; Van Crombruggen *et al.*, 2011). Esta bactéria tem a capacidade causar diversas patologias, dado o amplo número de fatores de virulência que dispõe, como a cápsula, parede celular, antígenos proteicos e uma notável gama de toxinas e enzimas, tais como, hemolisinas, leucocidina, exfoliatinas A e B, várias exotoxinas (A, B, C, D, E, G, H, I, K e TSST-1), catalase, coagulase, lipase, hialuronidase e estafilolisinas (Ferreira e Sousa, 2000; Iñiguez e Fonseca, 2006).

As exotoxinas de *S. aureus* atuam como superantígenos, que são capazes de estimular diretamente os linfócitos T CD4+, CD8+ e células T $\gamma\delta$, promovendo uma intensa resposta imunológica policlonal, sem a necessidade de reconhecimento antígeno específico (Heymans *et al.*, 2010; Bachert *et al.*, 2002). Isto provoca a ativação de uma percentagem significativamente maior de linfócitos (Iñiguez e Fonseca, 2006). Estudos recentes sugerem que certas exotoxinas estafilocócicas (enterotoxinas

(SE) A, B, C, D e TSST-1) funcionam como superantígenos na fisiopatologia da CRSwNP, exacerbando a inflamação (Heymans *et al.*, 2010).

A presença de *Staphylococcus* coagulase negativa na CRS é controversa (Larson e Han, 2011). Certos autores consideram este microrganismo, frequentemente, como agente colonizador (Araújo *et al.*, 2007; Feazel *et al.*, 2011), outros como agente patogénico oportunista (You *et al.*, 2011). Recentes estudos genéticos moleculares demonstram a capacidade patogénica de *Staphylococcus* coagulase negativa associada à formação de biofilmes (Larson e Han, 2011).

A *P. aeruginosa* é uma espécie ubiqüitária e um agente patogénico oportunista, mas na maioria dos casos inócuo. Esta espécie é considerada bacilo Gram negativo, não formadora de endósporos, móvel com flagelos polares, não produtora de gás a partir da glucose e oxidase positiva (Ferreira e Sousa, 2000; Mahon *et al.*, 2007). A sua patogenicidade limita-se ao oportunismo devido às suas características biológicas que limitam o acesso ao tecido do hospedeiro e a um nicho específico onde possa proliferar e evadir-se das defesas do mesmo (Ferreira e Sousa, 2000). Mas, uma vez estabelecida é um dos agentes oportunistas mais virulentos devido às toxinas, proteases e hemolisinas que excreta, capazes de provocar danos teciduais e destruir as defesas do hospedeiro (Ferreira e Sousa, 2000).

As bactérias do género *Haemophilus* constituem 10% da flora normal do trato respiratório superior (Ferreira e Sousa, 2000). Este género caracteriza-se por uma morfologia bacilar, apresentando-se por vezes como cocobacilos, Gram negativo, anaeróbios facultativos, imóveis e não esporulados (Ferreira e Sousa, 2000). O *Haemophilus influenzae* é o principal agente patogénico deste género, apresentando fatores de virulência como, cápsula, proteases, lípido A componente da sua parede celular e a adesão através de pili. Estes fatores permitem uma grande capacidade de invasão, causando diversas patologias como, otite média, conjuntivite, sinusite, bronquite, e pneumonia (Ferreira e Sousa, 2000; Mahon *et al.*, 2007).

S. aureus, *P. aeruginosa* e *H. influenzae* são consideradas bactérias produtoras de biofilmes em doentes com CRS (Li *et al.*, 2012). Geralmente, os biofilmes de *H. influenzae* estão associados a doença ligeira, enquanto os de *S. aureus* são encontrados em indivíduos com doença grave (Tamashiroi *et al.*, 2009). A taxa de incidência de biofilmes na CRS varia entre 25% e 100% (You *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012). Os biofilmes bacterianos são estruturas altamente organizadas de bactérias

envolvidas numa matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos (Tamashiroi *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2012). Os biofilmes são importantes fatores de perpetuação procariótica, uma vez que conferem maior resistência aos antibióticos e aos mecanismos imunológicos do hospedeiro, como a opsonização e fagocitose (Tamashiroi *et al.*, 2009).

A *M. catarrhalis* é uma bactéria exclusivamente humana e faz parte da flora comensal do trato respiratório superior (Mahon *et al.*, 2007). Este microrganismo caracteriza-se como diplococo Gram negativo, anaeróbio facultativo, catalase e oxidase positiva e não fermenta a glucose. A *M. catarrhalis* é considerada um agente patogénico oportunista que afeta principalmente crianças e idosos, sendo a terceira causa mais comum de sinusite em crianças (Mahon *et al.*, 2007).

O género *Streptococcus* é composto por cocos Gram positivo, dispostos aos pares ou em cadeia, anaeróbios facultativos e catalase negativa. Dentro deste género, encontra-se *S. pneumoniae*, um agente patogénico oportunista importante, dado o leque de patologias que pode provocar, como sinusite, otite média, pneumonia, bacteriémia e meningite (Ferreira e Sousa, 2000). Diversas condições facilitam a invasão deste microrganismo, como anomalias do trato respiratório, défice de complemento, neutropenia, deficiências circulatórias dinâmicas, entre outras (Ferreira e Sousa, 2000). Algumas destas condições já foram mencionadas anteriormente como predisponentes à CRS.

Dentro da família Enterobacteriaceae, a *Klebsiella pneumoniae*, a *Escherichia coli*, o *Enterobacter aerogenes*, o *Proteus mirabilis* e o *Proteus vulgaris*, já foram encontrados em culturas de doentes com CRS (Brook e Hausfeld, 2011; Chen *et al.*, 2012).

Para combater estes microrganismos, o sistema imunitário dispõe de mecanismos de imunidade inata e adquirida. Os mecanismos de imunidade inata contra bactérias extracelulares presentes no nosso organismo podem incluir a atividade do sistema do complemento ou outros fatores humorais, a fagocitose e a resposta inflamatória.

O sistema do complemento pode ser ativado por três vias: via clássica, via alternativa e via das lectinas (Arosa *et al.*, 2007; Cui *et al.*, 2009). O fator de complemento C3 é a proteína chave em todas as vias de reação, enquanto o fator de complemento C4 pertence apenas à via clássica e via das lectinas (Cui *et al.*, 2009). A

lectina de ligação à manose (MBL) pode também ativar a via das lectinas ligando-se a resíduos de manose presentes em diversos agentes patogénicos (Arosa *et al.*, 2007). Os fatores do complemento C3a, C5a e C5b67 ativam a resposta inflamatória, recrutando neutrófilos e macrófagos.

As células fagocíticas também têm um papel importante uma vez que podem ligar-se às bactérias extracelulares através dos recetores *Toll-like*, recetores *scavenger*, recetores de manose ou recetores do complemento, permitindo a sua ativação e posterior ação bactericida. A ativação destas células leva à produção de citocinas pró-inflamatórias que contribuem para a migração de leucócitos para o local de infeção. Outros fatores humorais como as proteínas de fase aguda podem contribuir também para a eliminação de bactérias, funcionando como opsoninas (exemplo: proteína C reativa (PCR)) (Arosa *et al.*, 2007).

Para além dos mecanismos de imunidade inata, o hospedeiro desenvolve uma resposta imunológica específica contra antígenos bacterianos, a imunidade adaptativa. Nesta resposta, os linfócitos T são estimulados pelas células apresentadores de antígeno a produzir citocinas, como o IFN- γ , que por sua vez vão estimular a ativação de macrófagos e a produção de anticorpos pelos linfócitos B. Os mecanismos efetores dependentes de anticorpos no combate a infeções consistem na neutralização (Ig G, Ig M e Ig A), opsonização e fagocitose (subclasses Ig G) ou ativação do complemento (Ig M, Ig G3, G1 e Ig G2 ativam a via clássica e Ig A a via alternativa ou via das lectinas) (Arosa *et al.*, 2007). A produção de Ig E também é importante na defesa contra as enterotoxinas de *S. aureus*. A ativação do complemento induzida por anticorpos pode levar à lise bacteriana por ação do complexo de ataque à membrana e pode induzir a síntese de anafilatoxinas como C3a, C4a, C5a, que provocam a desgranulação dos mastócitos causando vasodilatação e migração de leucócitos para o local de inflamação (Arosa *et al.*, 2007).

Além dos linfócitos B, os linfócitos T também desempenham um papel importante. Os antígenos proteicos podem ser apresentados pelas APC's aos linfócitos Th, tornando-os ativos. Esta ativação desencadeia a síntese de citocinas específicas e a interação com células B através do ligando CD40, levando à produção de anticorpos e a mudança isotípica. Consequentemente, induzem a inflamação local através do TNF- α e aumentam a capacidade microbicida através do INF- γ (Arosa *et al.*, 2007).

1.4.4 Diagnóstico

Após anamnese (história clínica e exame físico), a confirmação do diagnóstico é realizada por rinoscopia anterior ou por endoscopia nasal evidenciando a possível formação de pólipos e a secreção mucopurulenta, edema ou obstrução, principalmente do meato médio, e/ou tomografia computadorizada mostrando a inflamação da mucosa nasal e dos seios perinasais (Fokkens *et al.*, 2007).

Para além dos exames imagiológicos, o diagnóstico também pode ser acompanhado de testes de alergia e avaliação imunológica. A utilização de testes de alergia deve-se à evidência da associação entre a alergia e CRS em adultos (Rosenfeld *et al.*, 2007). A prevalência de alergia mediada por Ig E é maior em doentes com CRS (60%), quando comparado com a população em geral (30 a 40%) (Hamilos, 2011). Geralmente, os doentes com CRS apresentam maior sensibilização a alergénios perenes do que sazonais (Watelet *et al.*, 2007; Hamilos, 2011).

A avaliação imunológica fornece informações sobre a imunocompetência do indivíduo. Esta avaliação é importante na pesquisa de imunodeficiências em indivíduos com CRS e rinossinusite aguda recorrente, principalmente quando o tratamento falha e apresentam secreções purulentas (Rosenfeld *et al.*, 2007). Apesar de a maioria dos doentes pediátricos e adultos com CRS serem imunocompetentes (Hamilos, 2011), já foram relatados défices de imunoglobulinas e de fatores do complemento nestes indivíduos. Seppänen *et al.* (2006) descreveram a presença de C4a *nulls* e de baixos níveis de Ig A, Ig G total e as suas subclasses em indivíduos com CRS e rinossinusite aguda recorrente, quando comparados com indivíduos saudáveis. Cui *et al.* (2009) relataram uma diminuição da imunoglobulina G3 (Ig G3) em indivíduos com CRSsNP e um aumento de C3 e MBL em pacientes com CRSwNP e CRSsNP, quando comparados com os controlos. May *et al.* (1999) detetaram níveis baixos de imunoglobulinas em 22 dos 245 indivíduos com CRS refratária ao tratamento. Dezassete destes indivíduos mostraram deficiência de Ig G, e os restantes cinco, apresentaram défices de duas ou mais classes de imunoglobulinas (Ig A, Ig M e Ig G).

1.4.5 Tratamento

Os indivíduos que sofrem de CRS podem usar uma ampla prescrição para o tratamento dos seus sintomas. Esta prescrição pode englobar irrigação com solução salina, glucocorticoides nasais e sistêmicos, antibióticos tópicos e sistêmicos, antileucotrienos, descongestionantes, antihistamínicos, mucolíticos, antimicóticos e imunomoduladores/ imunoestimuladores (Fokkens *et al.*, 2007; Watelet *et al.*, 2007; Hamilos, 2011; Thornton *et al.*, 2011).

Um dos grandes problemas no tratamento desta patologia é a utilização de antibióticos e o surgimento de resistências associadas. A gestão da CRS leva ao uso repetido de antibióticos e exerce, conseqüentemente, uma pressão seletiva, favorecendo o crescimento de bactérias resistentes (Solares *et al.*, 2006). Num estudo recente realizado pelo Centers for Disease Control and Prevention foi descrito o uso de antibióticos de largo espectro no tratamento de otite média, rinossinusite e outras doenças comuns (Solares *et al.*, 2006). Este comportamento terapêutico abusivo conduz ao desenvolvimento de organismos multirresistentes e a uma diminuição das opções terapêuticas (Solares *et al.*, 2006). Brook *et al.* (2008) evidenciaram um aumento da frequência de *S. aureus* meticilina resistentes entre o período 2001-2003 e o período 2004-2006, em sinusite maxilar aguda e crônica.

Como alternativa à terapia farmacológica, é sugerido o tratamento termal evidenciando-se o seu efeito nos próximos capítulos deste trabalho.

Como última alternativa de tratamento é realizada a cirurgia. Esta forma de tratamento é essencialmente utilizada para indivíduos com CRS que não apresentam uma resposta satisfatória ao tratamento farmacológico e deve ser acompanhada por medicação antes e após a cirurgia (Fokkens *et al.*, 2007).

1.5 Benefícios das águas sulfurosas no trato respiratório superior

Anteriormente, foram descritos os diferentes tipos de água termal e as suas diversas indicações terapêuticas num amplo espectro de patologias. Ao longo deste capítulo serão evidenciados os vários benefícios da água sulfúrea no trato respiratório superior.

Estudos recentes demonstram os efeitos terapêuticos das águas sulfurosas nomeadamente, a normalização do transporte mucociliar, diminuição da camada bacteriana, e aumento dos níveis de imunoglobulinas no plasma (Staffieri e Abramo, 2007; Salami *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2010).

A função mucociliar representa a primeira barreira contra diversos agentes agressores do trato respiratório superior, muitas vezes afetado na rinite alérgica e CRS. Diferentes estudos demonstram que o tratamento com água termal sulfúrea permite uma melhoria nesta função, confirmada com uma significativa redução da média do tempo de transporte mucociliar após tratamento (Staffieri e Abramo, 2007, Salami *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2010).

Estas águas têm características antibacterianas cujo efeito microbicida é mediado pela toxicidade do enxofre e seus derivados (Salami *et al.*, 2010). O mecanismo exato desta toxicidade ainda não está totalmente esclarecido, mas pensa-se que estará relacionado com a ação deste composto na precipitação de iões metálicos de enzimas da cadeia respiratória ou na destruição de proteínas intracelulares (Aerts, 2009). Staffieri e Abramo (2007) verificaram uma redução bacteriana de 56,7% após o tratamento termal. Pinheiro (2011) avaliou o efeito terapêutico da água termal em patologias do trato respiratório superior *in vivo* no complexo termal do Cró (água sulfúrea), evidenciando numa população de 50 indivíduos, uma diminuição de *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e *Streptococcus* α -hemolíticos na flora nasal e decréscimo da colonização por *Neisseria* spp. e *Staphylococcus* coagulase negativo na flora orofaríngea. Moita (2011), analisou o potencial bactericida da água sulfúrea do complexo do Cró *in vitro*, utilizando meios de Tripticase Soja com percentagens crescentes de água termal para posteriormente cultivar isolados bacterianos (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e *S. aureus*) provenientes da comunidade e meio hospitalar. Neste estudo, apenas foram observadas diferenças significativas no crescimento do *S. aureus*, verificando-se a diminuição do teor desta bactéria à medida que aumentava a percentagem de água termal do meio de cultura. Salami *et al.* (2010), afirmaram que os sulfatos, além da sua atividade microbicida, têm a capacidade de bloquear a síntese de adesinas microbianas e parar a produção de biofilmes. Este investigador em 2008, num estudo elaborado com 100 crianças com infeções recorrentes do trato respiratório superior evidenciou o aumento de Ig A, a diminuição de Ig E e a redução significativa na severidade, duração e frequência na sintomatologia após tratamento termal com águas sulfúreas, o que salienta o papel anti-inflamatório

destas águas. Braga *et al.* (2010), também demonstrou o efeito anti-inflamatório das águas sulfúreas, *in vitro*, demonstrando que os grupos HS inibem significativamente a libertação da elastáse, uma proteinase serínica presente nos lisossomas dos neutrófilos com um papel importante na inflamação do trato respiratório.

A água termal sulfúrea também apresenta ação trófica e mucolítica, uma vez que atua nas pontes de dissulfureto das mucoproteínas, favorecendo a fluidificação das secreções (Salami *et al.*, 2010). Para além disso, estas águas sustentam funções imuno-modeladoras e anti-oxidantes (Rinaldi *et al.*, 2006; Mirandola *et al.*, 2007; Braga *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2008).

Os neutrófilos são células essenciais na resposta inflamatória de tecidos e órgãos. Estas células têm sido sugeridas como intervenientes na hipersecreção das vias respiratórias. Staffieri *et al.* (2007) observaram que após inalação de água sulfurosa-arsenica-ferrosa existiu uma significativa diminuição da média de contagem de neutrófilos em doentes com CRS. Similarmente, noutro estudo realizado pelo mesmo autor, é evidenciada uma redução do número de eosinófilos em doentes com CRS, 6 meses após tratamento termal com água sulfurosa-arsenica-ferrosa (Staffieri *et al.*, 2008). A redução do número de eosinófilos permite diminuir a libertação de citocinas e mediadores inflamatórios e consequentemente o edema e dano tecidual nesta patologia (Staffieri *et al.*, 2008).

As águas termais sulfúreas têm mostrado que podem inibir *in vitro*, a proliferação de linfócitos T provenientes de indivíduos saudáveis e de indivíduos com doenças crónicas imunomediadas (Salami *et al.*, 2008). Também tem sido documentado que estas águas podem inibir a libertação de IL-2 e IFN- γ . Dado o papel dos linfócitos T nos processos inflamatórios e o número de citocinas pro-inflamatórias que libertam, a sua inibição pode ter um efeito preventivo.

A presença de espécies de hidrosulfureto (H_2S , HS^- e S^{2-}) nestas águas confere-lhes um poder antioxidante (Braga *et al.*, 2008). Primariamente o H_2S foi considerado um gás tóxico, contudo, atualmente sabe-se que é produzido endogenamente a partir da cisteína por reações catalisadas pela cistationina β -sintetase e cistationina γ -liase ou pode ser administrado exogenamente através de água mineral sulfúrea (Rinaldi *et al.*, 2006; Braga *et al.*, 2008). A atividade das espécies de hidrosulfureto baseia-se no papel antioxidante nas vias aéreas durante a libertação de espécies reativas de oxigénio e

azoto por polimorfonucleares ativos, em resposta a estímulos endógenos e exógenos (Braga *et al.*, 2008).

Estudos recentes têm demonstrado que moléculas dadoras de H₂S têm sido eficazes na inibição da adesão dos leucócitos ao endotélio vascular, na redução da formação de edema e na inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias (Predmore *et al.*, 2012). Estes resultados podem eventualmente sugerir a água termal como um dador de H₂S que potencia estes efeitos ao nível da mucosa nasal.

1.6 Objetivos

Portugal é um dos países europeus mais ricos em águas termais a par da França, Itália e Alemanha, tanto pela quantidade de nascentes termais como pela qualidade das suas águas. Historicamente, estas águas estão ligadas ao sector da saúde e da prestação de cuidados de saúde, contudo a sua aplicação resulta de um conhecimento empírico adquirido ao longo dos séculos de utilização e a existência um défice de evidências científicas que comprovem os seus benefícios, tem dificultado a implementação desta terapia como tratamento alternativo.

Neste sentido, com este trabalho, pretendeu-se encontrar evidências científicas da terapêutica termal, avaliando os efeitos do tratamento com águas sulfúreas na flora microbiana nasal e nasofaríngea e no perfil inflamatório de portadores de *S. aureus* com patologias do trato respiratório superior.

Para tal realizou-se a:

- Determinação das diferenças de prevalência das estirpes bacterianas nos exsudados nasais e orofaríngeos, antes e após o tratamento termal;
- Identificação dos indivíduos portadores de *S. aureus*;
- Determinação do hemograma e velocidade de sedimentação (VS);
- Determinação do perfil inflamatório dos indivíduos portadores e não portadores de *S. aureus*, antes e após tratamento termal, por quantificação de C3, C4, PCR, Ig G, Ig A e Ig M totais, triptase, Ig E total, Ig E específica a alérgenos inalantes (*Phadiatop*[®]) e Ig E anti-enterotoxina A, B, C e TSST-1.

II. Materiais e Métodos

2.1 Local e período de estudo

Este estudo foi realizado nas estâncias termais do Cró, Almeida, Caldas de Manteigas e Longroiva, em colaboração com o serviço de Patologia Clínica, do Hospital Sousa Martins, e o Centro de Investigação Ciências da Saúde, da Universidade da Beira Interior, durante o período de 1 de Junho de 2011 a 31 de Junho de 2012.

2.2 Critérios de seleção de amostras biológicas

A seleção de doentes foi realizada pelos clínicos de cada estabelecimento termal, tendo como base indivíduos com idade superior a 18 anos, com o diagnóstico de rinite alérgica ou CRS.

2.3 Amostra em Estudo

Cada participante assinou um consentimento informado, livre e esclarecido, respondeu a um questionário validado clinicamente e realizou uma colheita de sangue e de exsudados nasais e orofaríngeos, antes e depois do tratamento termal (Anexo I).

2.3.1 Questionário

O questionário (Anexo II) foi utilizado como abordagem inicial a cada doente, conhecendo a patologia e o grau de afetação, bem como os seus hábitos termais, nomeadamente, o tipo, a frequência e eficácia do tratamento com água termal.

Este questionário foi composto por três partes: dados pessoais, dados clínicos e dados relativos ao termalismo. Os dados pessoais englobam o nome, idade, sexo, habilitações literárias e peso. Os dados clínicos incluem dezanove perguntas sobre a condição clínica do paciente e a forma como esta afeta o seu dia-a-dia. Os dados relativos ao tratamento termal abrangem treze perguntas sobre o tipo, número de tratamentos e a eficácia dos mesmos.

2.3.2 Colheita de amostras

2.3.2.1 Sangue

A colheita de sangue foi efetuada por punção venosa na região do antebraço, utilizando agulhas 0,8 x 25 mm, para tubos de vácuo (Sarstedt ®) com K₂-EDTA e com gel.

O sangue total obtido nos tubos com K₂-EDTA foi utilizado para realização do hemograma e VS, antes e depois do tratamento termal.

O sangue colhido para tubos com gel foi centrifugado a 3500 rotações por minuto durante 10 minutos, de forma a obter amostras de soro. Posteriormente, estas foram aliquotadas e armazenadas a -80°C até à realização das análises serológicas pretendidas.

A partir do soro foi determinado o perfil inflamatório sérico, antes e após o tratamento, onde se incluem os analítos C3, C4, PCR, Ig G, Ig A, Ig M totais, triptase, Ig E total, Ig E específica a alérgenos inalantes (*Phadiatop*®) e Ig E específica antienterotoxinas A, B, C e TSST-1.

2.3.2.2 Exsudados nasais e orofaríngeos

Após a colheita de sangue, foi realizada a colheita de um exsudado nasal e um exsudado orofaríngeo com zaragatoas de Dacron (Deltalab®).

O exsudado nasal foi obtido através da introdução da zaragatoa na narina, paralelamente ao palato, deixando-a nesta posição alguns segundos para absorver secreções. Depois, introduziu-se um pouco mais fundo, ao longo da mucosa nasal, até ao paciente lacrimejar, rodando ligeiramente a zaragatoa. Este procedimento foi repetido na outra narina, utilizando a mesma zaragatoa.

O exsudado orofaríngeo foi obtido comprimindo a língua com uma espátula esterilizada e solicitar que o doente verbalize “aaa” de forma a elevar a úvula e, de seguida, com a zaragatoa friccionar a parede faríngea e os pilares da orofaringe.

Após colheita dos exsudados, foram adicionadas 2 a 3 gotas de soro fisiológico às zaragatoas de forma a manter a viabilidade das estirpes.

2.4 Processamento laboratorial

2.4.1 Sangue total

2.4.1.1 Hemograma

A determinação do hemograma foi realizada no equipamento Sysmex XE-5000. Este aparelho é um contador hematológico automático que utiliza impedância, radiofrequência e citometria de fluxo com fluorescência para determinação dos diversos parâmetros presentes do hemograma em múltiplos canais: o canal de hemoglobina, canal de eritrócitos/plaquetas, canal diferencial de leucócitos, canal leucócitos/basófilos, canal de reticulócitos e canal de eritroblastos. O canal de hemoglobina permite o doseamento de oxi-hemoglobina e meta-hemoglobina através de reagentes sem cianeto (lauril sulfato). No canal eritrócitos/plaquetas é determinado o número total de glóbulos vermelhos, hematócrito e plaquetas por impedância e radiofrequência com auxílio de focagem hidrodinâmica. A impedância permite a detecção do tamanho celular e a radiofrequência, a determinação da densidade celular. A diferenciação das diferentes populações de leucócitos (neutrófilos, monócitos, linfócitos, eosinófilos) é realizada por citometria de fluxo com fluorescência através de uma polimetina fluorescente capaz de se ligar ao RNA e DNA celular, cuja dispersão de luz frontal fornece o tamanho celular, a dispersão lateral indica a estrutura interna da célula e a intensidade de fluorescência o tamanho do núcleo. A contagem do número total de leucócitos totais e basófilos no canal leucócitos/basófilos recorre apenas a citometria de fluxo com laser semi-condutor e a dispersão de luz é medida tanto a nível frontal, como lateral. O canal de reticulócitos permite a determinação do número de reticulócitos e plaquetas ópticas através citometria de fluxo com fluorescência. O canal dos eritroblastos também utiliza a mesma tecnologia usada para o doseamento dos reticulócitos, mas a concentração de polimetina fluorescente utilizada é diferente.

2.4.1.2 Velocidade de sedimentação

A determinação da VS foi realizada pelo método de Westergren modificado, no aparelho VES MATIC CUBE 80 (DIESSE). Esta determinação foi efetuada através sensores analógicos que permitem a leitura da densidade ótica inicial da amostra e leitura da densidade ótica final da coluna de plasma sobrenadante após sedimentação dos eritrócitos.

2.4.2 Soro

2.4.2.1 Quantificação de Ig E específica a alérgenos inalantes, Ig E total, Ig E anti-enterotoxinas e triptase

A determinação da concentração de Ig E específica a alérgenos inalantes (*Phadiatop*[®]), Ig E total, Ig E específica anti-enterotoxinas A, B, C e TSST-1 e a triptase foram determinadas por FEIA (*Fluorescence Enzyme Immunoassay*) no equipamento ImmunoCAP 250 (Thermo Scientific). Este equipamento utiliza uma matriz polimérica flexível de celulose numa unidade de teste designada Immuncap.

O alérgeno acoplado covalentemente ao ImmunoCAP (fase sólida) reagiu com as imunoglobulinas específicas da amostra de soro do doente durante a incubação. Após lavagem, removendo o excesso de Ig E humana, adicionou-se o conjugado. O conjugado é composto por anticorpos monoclonais anti-Ig E de rato acoplados com um fluorocromo, a β -galactosidase. O conjugado ligou-se às Ig E humana, formando complexos após incubação. De seguida, efetuou-se uma nova lavagem removendo o excesso de conjugado, e o complexo ligado foi incubado com o substrato (4-metilumbíferil-B-D-Galactosidase). Após a adição de solução de STOP (Carbonato de sódio a 4%), foi lida a fluorescência do eluído num fluorímetro. Quanto mais elevado o valor da resposta, maior a presença de Ig E na amostra. Para avaliar os resultados do ensaio, a resposta das amostras dos doentes foi convertida em concentração através da utilização de uma curva de calibração obtida a partir de calibradores aferidos ao “2nd International Reference Preparation 75/502 of Human Serum Immunoglobulin E” da Organização Mundial de Saúde.

2.4.2.1.1 Quantificação de Ig E específica a alergénios inalantes (Phadiatop®)

Os resultados da Ig E específica a alergénios inalantes são expressos como positivo e negativo. Para este estudo, utilizou-se como valor limiar 0,35 kU/L, acima do qual, considera-se resultado positivo. O resultado positivo indica a presença de anticorpos Ig E específicos a um ou mais alergénios inalantes. A reavaliação com alergénios simples é aconselhada caso seja necessário a identificação do (s) alergénio (s) específico (s) e obter um resultado quantitativo. O resultado negativo traduz ausência ou níveis indetetáveis de anticorpos Ig E para a mistura de alergénios acoplados em fase sólida. A classificação e interpretação dos resultados obtidos com o *Phadiatop*® não podem ser comparadas com os resultados de um alergénio simples. O grau de positividade do *Phadiatop*® não pode ser considerado como o grau de positividade cumulativa dos respetivos alergénios simples. Uma análise de *Phadiatop*® positivo, em conjunto com os fatores clínicos e com a história familiar, são determinantes de atopia.

2.4.2.1.2 Quantificação de Ig E total

Este teste permite medir a quantidade de IgE total circulante em amostras de soro humano e auxilia no diagnóstico clínico de doenças alérgicas. O aumento do valor de Ig E total na infância é bastante lento, os valores de adulto são atingidos apenas entre os 15 e os 20 anos.

A curva de calibração abrange os valores 2-5000kU/L. O ensaio foi verificado pela utilização de controlo interno vigente no Hospital Sousa Martins.

2.4.2.1.3 Quantificação de Ig E específica antienterotoxinas

Este teste permite medir a quantidade de IgE específica antienterotoxinas em amostras de soro humano, responsáveis pela potenciação da resposta alérgica em doentes portadores de *S. aureus* produtores de enterotoxinas. Para cada enterotoxina analisada, o alergénio de interesse encontra-se acoplado covalentemente ao ImmunoCAP (fase sólida).

A curva de calibração abrange os valores 0,35 – 100 kUA/L. Os valores são também apresentados em classes de concentração, o que facilita a estratificação do grau de risco de anafilaxia e a monitorização da terapêutica (Tabela 1).

O ensaio foi verificado pela utilização de controlo de qualidade interno vigente no Hospital Sousa Martins.

Tabela 1. Concentração de Ig E específica e estratificação do grau de anafilaxia (retirada de www.phadia.com.pt, 20 de Março 2012).

Concentração de Ig E específica (kUA/L)	Estratificação do grau de risco de anafilaxia
< 0,35	Ausente ou indetectável
0,35 – 0,61	Baixo
0,7 – 3,4	Moderado
3,5 – 17,4	Elevado
17.5 - 49	Muito elevado
50-100	Muito elevado
>100	Muito elevado

2.4.2.1.4 Quantificação da triptase

A triptase é um marcador de desgranulação dos mastócitos. Um aumento transitório do nível de triptase em circulação após o paciente sofrer uma reação anafilática, ajuda a identificar e avaliar o grau da reação.

A resposta das amostras dos doentes foi convertida em concentração através da utilização de uma curva de calibração e o ensaio foi verificado pela utilização de controlo de qualidade interno vigente no Hospital Sousa Martins.

2.4.2.2 Quantificação de Ig A, Ig M, Ig G, C3, C4 e PCR

Os analitos C3, C4, PCR, Ig G, Ig A e Ig M foram determinados no equipamento Cobas 6000 (Roche) por imunoturbidimetria. Este método consiste na quantificação de imunocomplexos, formados a partir de uma reação de imunoprecipitação, pela turvação do meio. Ou seja, os anticorpos presentes no reagente de teste reagem com o antigénio presente na amostra (C3, C4, PCR, Ig G, Ig A e Ig M) formando imunocomplexos e a aglutinação é medida pela quantidade de luz que atravessa a solução. Desta forma, quanto menor a luz transmitida maior a quantidade de analítico na amostra. Todos os parâmetros foram calibrados e verificados por utilização de controlo de qualidade interno vigente no Hospital Sousa Martins.

2.4.3 Valores de referência

Para a realização deste trabalho foram considerados os seguintes valores de referência (Tabela 2):

Tabela 2.Valores de referência para todos os analitos.

Analito	Valores de referência	
	Homens	Mulheres
Número absoluto de leucócitos	3,59 – 9,64 x 10 ³	3,04 – 8,54 x 10 ³
Número absoluto de neutrófilos	1,64 – 5,95 x 10 ³	1,57 – 5,78 x 10 ³
Número absoluto de linfócitos	1,12 – 3,33 x 10 ³	0,99 – 2,90 x 10 ³
Número absoluto de monócitos	0,18 – 0,61 x 10 ³	0,15 – 0,47x 10 ³
Número absoluto de eosinófilos	0,02 – 0,48 x 10 ³	0,02 – 0,38 x 10 ³
Número absoluto de basófilos	0,01- 0,10 x 10 ³	0,01- 0,09 x 10 ³
VS	2-13	2-20
PCR	< 0,5 mg/dL	
C3	90 - 180 mg/dL	
C4	10 - 40 mg/dL	
Ig G total	700 - 1600 mg/dL	
Ig A total	70 - 400 mg/dL	
Ig M total	40 - 230 mg/dL	
Ig E total	<200 kUA/L	
Ig E específica a alérgenos inalantes	<0.35 kUA/L	
Ig E específica antienterotoxinas	<0.35 kUA/L	
Triptase	< 10ug/L	

2.4.4 Exsudados nasais e orofaríngeos

Os exsudados nasais e orofaríngeos recolhidos foram utilizados para sementeira de forma a avaliar a prevalência e variação numérica das diferentes estirpes antes e após tratamento termal.

2.4.4.1 Sementeira

Os exsudados nasais e orofaríngeos foram semeados em Gelose de Columbia + 5% de Sangue de Carneiro (COS) e em Gelose Chocolate Polyvitex (PVX) (BioMerieux®, França). Inicialmente, realizou-se um inóculo, rolando a zaragatoa em aproximadamente $\frac{1}{4}$ da superfície do meio sólido, depois, com uma ansa calibrada e estéril, semeou-se pela técnica de esgotamento por estrias como evidenciado na Figura 3.

Após inoculação e estriamento dos meios sólidos, o meio COS foi incubado a 37°C, durante 18 a 24h em aerobiose e o meio PVX a 37°C, durante 18 a 24h em estufa com 5% de CO₂.

Decorrida a incubação e o crescimento bacteriano foram quantificadas as unidades formadoras de colónias (UFC) das três estirpes mais prevalentes, com base na sua morfologia macroscópica e intervalos de contagem padronizados para este estudo (0, 100, 500, 1000 UFC)

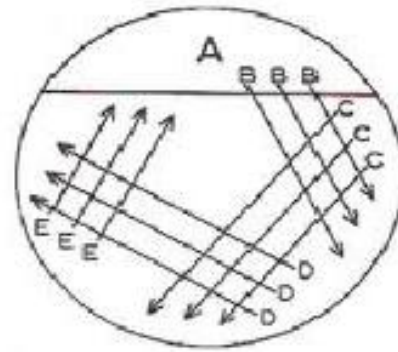


Figura 3. Técnica de sementeira em placa. A zona A, representa a zona de inóculo e as zonas B, C, D e E representam o percurso da ansa calibrada estéril de forma a realizar estrias sucessivas. Fonte: Motor de busca Google, pesquisa de imagens “técnica de sementeira em placa” acedido a 19 de Fevereiro 2012.

2.4.4.2 Coloração de Gram

Depois da quantificação das três estirpes mais prevalentes, procedeu-se ao estudo morfológico e tintorial de Gram.

A coloração de Gram é uma técnica de coloração diferencial que permite distinguir os dois principais grupos de bactérias - Gram positivo e Gram negativo - por microscopia ótica. Esta diferenciação baseia-se na distinta estrutura e composição, nomeadamente no teor lipídico, da parede celular de bactérias Gram positivo e Gram negativo. Na técnica de Gram, utiliza-se como primeiro corante, o cristal violeta, que cora o citoplasma de púrpura independentemente do tipo de célula, seguido de um mordente, o lugol, que aumenta a afinidade entre o cristal violeta e a célula através da formação de um complexo insolúvel no seu interior, um agente descolorante, álcool -

acetona, que funciona como solvente lipídico, removendo o corante do interior das bactérias Gram negativas (alto teor de lípidos) e por fim um segundo corante, a fucsina, que permite a coloração das bactérias anteriormente descoradas (Figura 4).

Após fixação do esfregaço realizado a partir de uma colônia isolada das três estirpes mais prevalentes, a lâmina foi coberta consecutivamente com Cristal violeta (10 a 30 segundos), lugol (20 a 60 segundos), álcool-acetona (10 a 30 segundos) e Fucsina (30 a 60 segundos). Entre cada fase de coloração, o esfregaço foi lavado com água corrente (procedimento descrito no KIT Gram Stain ® (Salubris, Inc)).

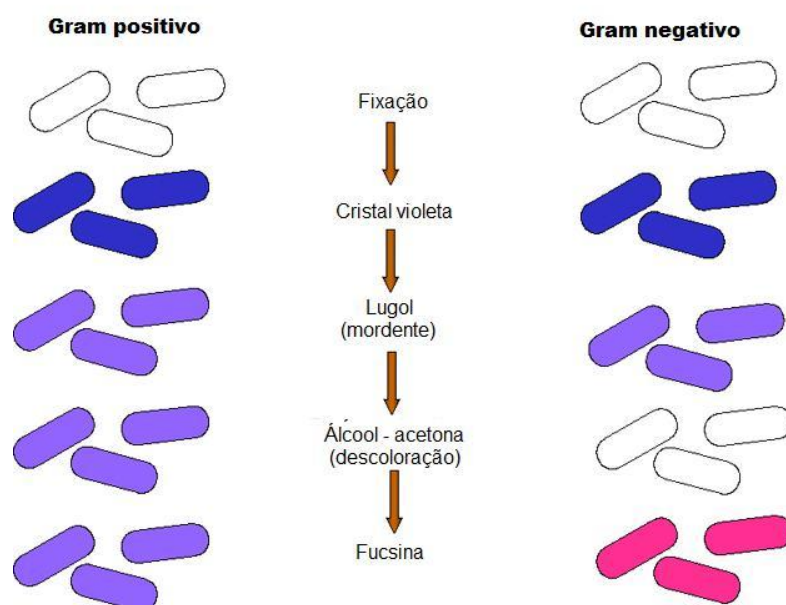


Figura 4. Coloração de Gram. Adaptado de: motor de busca google, pesquisa de imagens “coloração de Gram”, acedido a 20 de Fevereiro de 2012.

Os esfregaços foram observados por microscopia ótica de campo claro com a objetiva de emersão (100X).

2.4.4.3 Prova da Catalase

A catalase é uma enzima que degrada o peróxido de hidrogénio em água e hidrogénio. A prova da catalase foi utilizada para a distinção do género *Staphylococcus* do género *Streptococcus*.

Numa lâmina de vidro, colocou-se uma gota de peróxido de hidrogénio a 3%. De seguida, transferiu-se, com auxílio de uma ansa calibrada estéril, uma colónia isolada do meio de cultura, observando-se a imediata formação de bolhas (reação positiva) ou não (reação negativa). A reação positiva identifica presuntivamente o género *Staphylococcus*, produtor desta enzima.

2.4.4.4 Identificação de *S. aureus*

A seguir a uma reação positiva na prova da catalase, realizou-se a identificação presuntiva de *S. aureus* através do teste de aglutinação em latex PASTOREXTM STAPH-PLUS, Biorad®.

Este teste permite a deteção do fator de afinidade para o fibrinogénio, também conhecido como coagulase unida à parede celular, da proteína A que tem grande afinidade para a fração Fc da Ig G e de polissacarídeos de *S. aureus*, através de partículas de látex sensibilizadas com fibrinogénio, Ig G e anticorpos monoclonais contra polissacarídeos capsulares desta bactéria. Desta forma, o reagente consegue detetar tanto estirpes muito capsuladas, como pouco capsuladas, ou seja, as estirpes muito capsuladas são aglutinadas pelos anticorpos monoclonais anti-capsulares, enquanto nas estirpes menos capsuladas, a aglutinação ocorre através do fibrinogénio e das Ig G.

Para a execução do teste, homogeneizaram-se bem os reagentes (reagente com partículas de látex sensibilizadas e controlo negativo), colocou-se uma gota de cada um em dois círculos do card previamente identificados e com ajuda de um bastonete de plástico, retirou-se uma a três colónias isoladas do meio sólido, homogeneizando-as em movimentos circulares com cada um dos reagentes. A leitura foi realizada 30 segundos após homogeneização das colónias com os reagentes do teste. O controlo negativo não apresentou qualquer aglutinação. As amostras positivas evidenciaram a formação de agregados, observados a olho nú.

2.4.4.5 Identificação de MRSA

Com a identificação presuntiva de *S. aureus* positiva era importante determinar se era resistente à meticilina, e para tal, foi efetuado o teste de aglutinação em látex SLIDEX[®] MRSA detection, BioMérieux[®]. Este teste permite a detecção de resistência à meticilina através de partículas de latex sensibilizadas com anticorpos monoclonais contra as PBP2' (produto resultante do gene *MecA*) previamente extraídas, evidenciando uma aglutinação visível a olho nú.

Para a extração das PBP2' presentes na parede celular de *S. aureus*, colocaram-se quatro gotas do reagente de extração 1 (solução de NaOH a 0,1mol/l) num tubo de microcentrífuga. Depois, encheram-se completamente o interior de duas ansas estéreis de 1,5µl com colónias isoladas previamente identificadas como *S. aureus* e homogeneizaram-se vigorosamente com o reagente de extração 1. Em seguida, colocou-se o tubo num bloco de aquecimento a 100°C durante 3 minutos. Deixou-se arrefecer à temperatura ambiente, acrescentou-se uma gota de reagente de extração 2 (solução de KH₂PO₄ a 0,5mol/l), homogeneizou-se no vórtex e centrifugou-se a 3000 rpm durante 5 minutos. Após centrifugação, utilizou-se o sobrenadante como amostra.

Para aglutinação em látex, identificaram-se os dois círculos do card pretendidos para a realização do teste e colocou-se uma gota de controlo negativo (Azida sódica a 0,1g/l) e “latex sensibilizado” (latex sensibilizado por um anticorpo monoclonal anti-PBP2' de rato + Azida sódica a 0,1g/l). De seguida, adicionou-se 50µl de amostra em ambos os círculos contendo os reagentes previamente dispensados e homogeneizou-se com um bastonete de plástico, distribuindo a mistura em toda a superfície do círculo. Posteriormente, agitou-se o card com um ligeiro movimento rotativo durante 3 minutos e observou-se a presença ou ausência de aglutinação. O controlo negativo não pode apresentar qualquer aglutinação. Na amostra, caso surja aglutinação, identifica-se presuntivamente como *S. aureus* meticilina resistentes (MRSA).

2.4.4.6 Prova da oxidase

A prova da oxidase permite determinar a presença ou a ausência de atividade do citocromo c oxidase em bactérias. Esta técnica consiste em colocar numa lâmina um pequeno pedaço de papel de filtro onde se adiciona uma gota de reagente tetrametil p-fenilenodiamina diidrocloreto (reagente de Kovac). Posteriormente, retira-se uma a duas colónias isoladas da bactéria a testar com uma ansa calibrada de plástico e fricciona-se sobre o reagente absorvido pelo papel de filtro. A prova é considerada positiva quando a mistura do reagente com a massa bacteriana desenvolve uma coloração púrpura. A reação é negativa quando não há desenvolvimento de coloração.

As Enterobacteriaceae são consideradas oxidase negativas e esta prova permite diferenciá-las de outros bacilos Gram negativos.

2.4.4.7 VITEK 2 Compact

O sistema VITEK 2 compact é um sistema automático de identificação e antibiograma. Este sistema incorpora um conjunto de cartas colorimétricas que são incubadas e lidas automaticamente. Cada carta tem um conjunto de 64 poços, que contêm substratos individuais de teste. Estes substratos permitem a deteção de diversas atividades metabólicas tais como, acidificação, alcalinização, hidrólise enzimática e crescimento na presença de compostos inibitórios. Cada carta tem um tubo de transferência usado para a inoculação da mesma.

Neste trabalho, só foram identificados no sistema VITEK 2 compact, os bacilos Gram negativo, utilizando a carta GN. Os bacilos Gram positivo não foram identificados.

A carta GN é utilizada para a identificação automática de bacilos Gram negativo fermentadores e não fermentadores mais significantes. Esta carta contém 47 testes colorimétricos que medem a utilização de fontes de carbono, atividade enzimática e resistência a substâncias inibitórias. Os resultados finais são lidos em aproximadamente 10 horas após incubação.

2.4.4.7.1 Preparação do inóculo

A preparação do inóculo é realizada a partir de cultura pura com pelo menos 18 a 24h de incubação em atmosfera adequada. Transferiu-se um determinado número de colónias para 3 ml de solução salina de forma a atingir uma turvação de 0,50 a 0,63 na escala de McFarland, necessária para a identificação de bacilos Gram negativo nesta carta. A turvação é medida por um densitómetro (Densicheck).

2.4.4.7.2 Transferência, selagem e incubação

Após inoculadas as cartas através do sistema de vácuo presente na câmara de enchimento, o equipamento tem a capacidade de cortar o tubo de transferência e selar a carta antes de a colocar no carrossel de incubação. Todas as cartas são incubadas a $35,5^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$. Cada carta é retirada do carrossel de incubação uma vez em cada 15 minutos, transportada para o sistema ótico para realizar a leitura da reação, e depois volta para a incubação até o tempo de leitura seguinte. Os dados são recolhidos em intervalos de 15 minutos durante todo o período de incubação.

2.4.4.7.3 Interpretação das reações

O sistema ótico para a interpretação das diversas reações utiliza vários comprimentos de onda no espectro visível, medindo tanto a turvação como os cromogéneos resultantes do metabolismo do substrato. Neste equipamento, os resultados da reação de teste podem ser expressos como "+", "-", "(-)" ou "(+)". As reações que aparecem entre parênteses são indicativas de reações fracas, ou seja, que se encontram demasiado próximo do limiar de teste. Os resultados obtidos a partir da leitura das reações são comparados com o banco de dados do equipamento e fornecida a respetiva identificação. Caso não seja encontrado um padrão único de identificação, o equipamento fornece uma lista de possíveis microrganismos.

2.5 Tratamento estatístico

Após processamento laboratorial e recolha dos dados obtidos foi utilizada a estatística descritiva para uma melhor perceção dos resultados e a estatística inferencial para averiguar a sua significância estatística, utilizando para tal o programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS), versão 19.0.

No âmbito da estatística descritiva foram utilizadas medidas descritivas elementares tais como frequências absolutas, frequências relativas, média, desvio padrão, mediana, interquartil, valor máximo e valor mínimo. Os resultados serão apresentados em forma de gráfico e tabelas.

Na estatística inferencial, a normalidade dos dados foi testada através da aplicação do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para as variáveis com uma distribuição normal aplicou-se o teste t Student para amostras emparelhadas e para amostras independentes. Para variáveis com distribuição não gaussiana utilizaram-se testes não paramétricos: o teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas e o teste de Mann-Whitney U para grupos independentes. Em todos os testes considerou-se um nível de significância de $p < 0,05$.

III. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização da população de estudo

Portugal é um dos países europeus com maiores recursos de águas termais, a par da França, Alemanha e Itália. Contudo, durante muito tempo, a utilização de água termal foi empírica, ou seja, não existiam evidências científicas que comprovassem os seus benefícios, prejudicando amplamente o reconhecimento desta terapêutica. Recentemente, diversos estudos têm assegurado efeitos benéficos de diferentes águas termais na redução da inflamação local e consequente melhoria dos sintomas após tratamento (Staffieri e Abramo, 2007; Salami *et al.*, 2008; Staffieri *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2010). Neste trabalho procedeu-se à avaliação das alterações microbiológicas e imunológicas de doentes com patologia do trato respiratório superior, antes e após o tratamento termal.

Numa primeira fase, caracterizou-se a população de estudo quanto ao sexo, idade, habilitações literárias, hábitos tabágicos e frequência termal.

Dos 106 indivíduos incluídos no estudo a maioria era do sexo feminino (64,2%), em detrimento do sexo do masculino (35,8%) (Gráfico 1). A idade variou entre 25 e 88 anos, situando-se a média nos $63,4 \pm 12,3$ anos. Contudo os indivíduos do sexo masculino são em média 5 anos mais velhos que o sexo feminino ($66,7 \pm 11,8$ anos e $61,5 \pm 12,2$ anos, respetivamente). Para além disso, verificou-se que, no geral, o escalão etário que mais recorre ao tratamento termal é dos 60-69 anos (46,2%), seguido do escalão dos 70-79 anos (22,6%) (Gráfico 2). De referir também que 52,8% dos inquiridos têm idade superior a 65 anos.

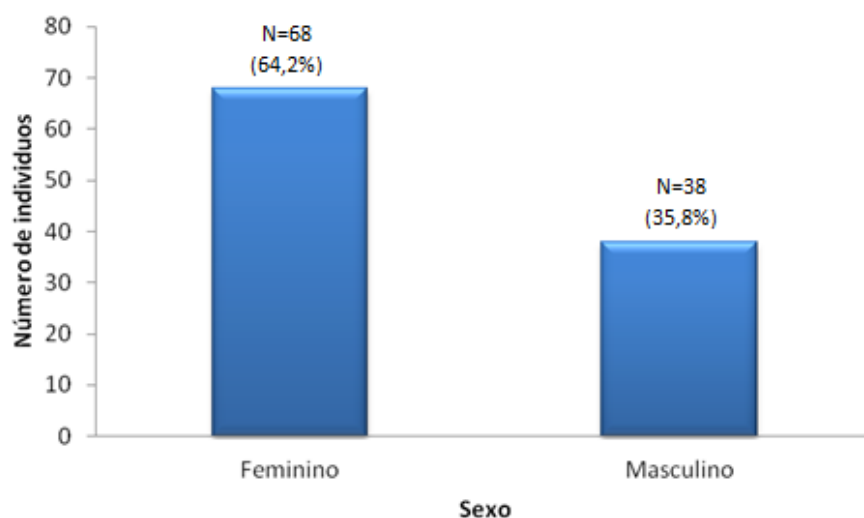


Gráfico 1. Total de inquiridos segundo o sexo.

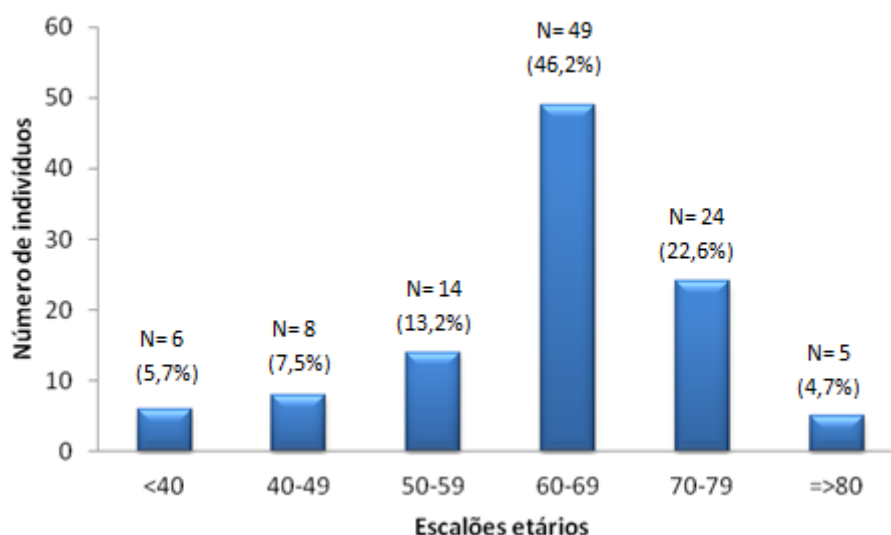


Gráfico 2. Total de inquiridos segundo o escalão etário.

Quanto ao nível de escolaridade do total de inquiridos verificou-se que a escolaridade e a idade são inversamente proporcionais, ou seja, quanto maior a idade, menor a escolaridade (Gráfico 3). Um estudo realizado por Alpoim (2010) nas termas do Luso, da Curia e S. Pedro do Sul e, Caldas da Saúde e S. Jorge, através de inquéritos a 282 aquistas sobre a procura tratamentos termais evidenciou também esta mesma realidade.

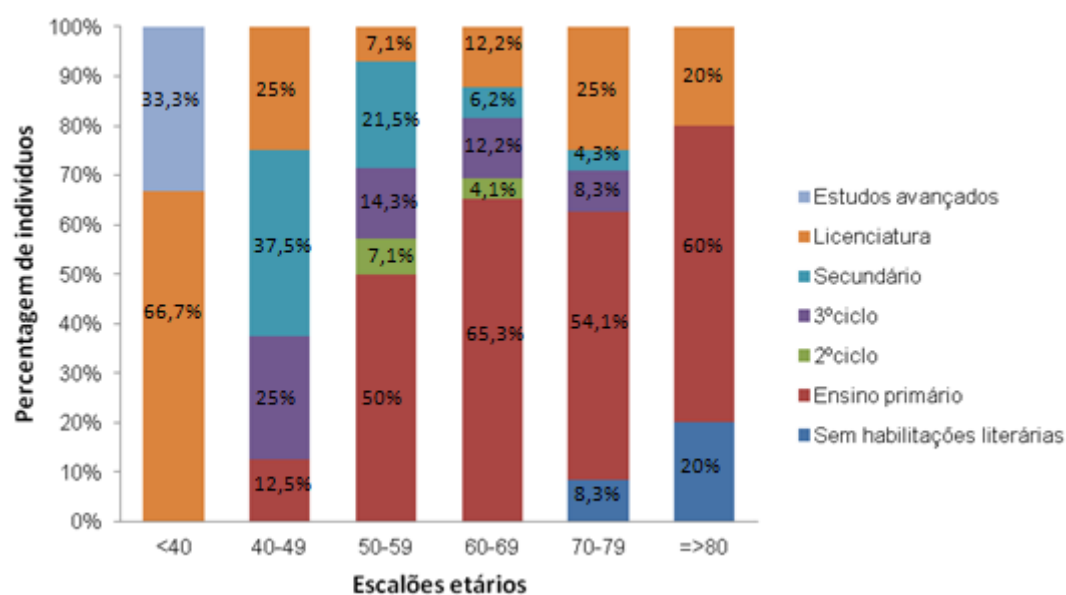


Gráfico 3. Nível de escolaridade de acordo com a idade de acordo com os escalões etários dos inquiridos.

No que diz respeito à patologia, 28 dos 106 inquiridos tinham diagnóstico de rinite alérgica (24 sexo feminino e 4 sexo masculino) e os restantes 78 (44 sexo feminino e 34 sexo masculino) de CRS (Gráfico 4). A média de idades situa-se $61,8 \pm 13,5$ anos para a rinite alérgica e $64 \pm 11,8$ anos para a CRS.

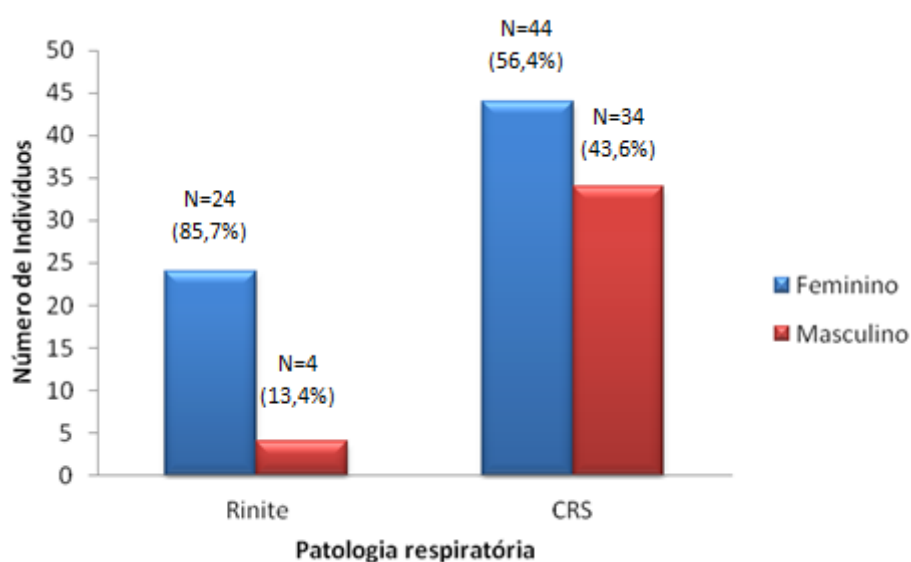


Gráfico 4. Total de inquiridos subdivididos por patologia e sexo.

Face aos dados apresentados na tabela 3, observou-se que em média 50% (14 dos 28 indivíduos) com rinite alérgica já têm a doença há mais de 20 anos e os doentes com CRS, 69,7% (53 dos 76 dos indivíduos) apresentam patologia há mais de 10 anos. De referir que dois indivíduos com CRS não responderam à pergunta “Com que idade lhe foi diagnosticada a patologia”.

Tabela 3. Período de inflamação de acordo com a patologia respiratória (nº de indivíduos).

Tempo de doença	Patologia		Total Nº de indivíduos
	Rinite alérgica	CRS	
Igual ou inferior a 5 anos	4	15	19
Entre 6 a 10 anos	3	8	11
Entre 11 e 15 anos	1	17	18
Entre 16 e 20 anos	6	8	14
Superior a 20 anos	14	28	42
Total	28	76	104

No que concerne aos hábitos tabágicos verificou-se que 78,3% dos inquiridos não fumava, 18,9 % era ex-fumador e apenas 2,8% continuava a fumar.

Quanto aos hábitos termais, evidenciou-se que 54,7% dos indivíduos vinham por aconselhamento médico. Alpoim (2010) e Pinheiro (2011) em estudos realizados em termas portuguesas, verificaram que 45,4% e 52% dos aquistas inquiridos frequentavam as termas por prescrição médica, respetivamente. Este facto demonstra que mesmo carecendo de mais evidências científicas, a implementação da medicina termal como terapêutica alternativa tem vindo a impor-se dado o número de trabalhos desenvolvidos ao longo dos últimos anos e o elevado custo da terapêutica farmacológica, estimulando assim os clínicos para a sua prescrição.

Do total de aquistas inquiridos 35 (33%) afirmaram recorrer às termas pela 1ª vez, e 31 (29,2%) já recorriam ao tratamento termal “entre 2 e 5 anos” (Gráfico 5). A maioria dos aquistas declararam que frequentam as termas apenas uma vez por ano (93,7%), contudo uma percentagem inferior recorre ao termalismo como única terapêutica (65,1%) (Gráfico 6). Os indivíduos que recorrem ao termalismo como única terapêutica

consideram-se em média menos afetados pela doença que os aquistas com terapêutica farmacológica (média dos sintomas $5,6 \pm 2,1$ e $6,28 \pm 2,1$, respetivamente).

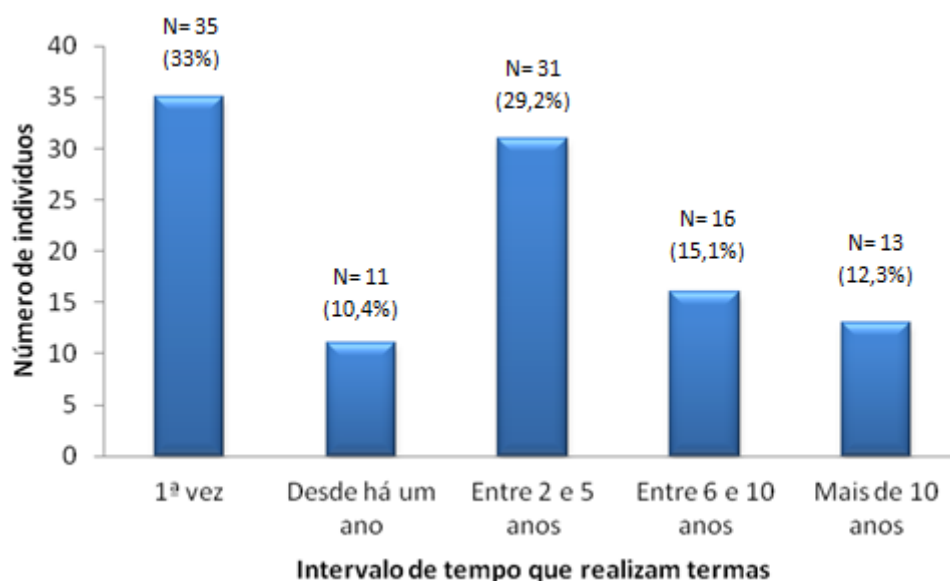


Gráfico 5. Número de inquiridos de acordo com o intervalo de tempo que frequenta as termas.

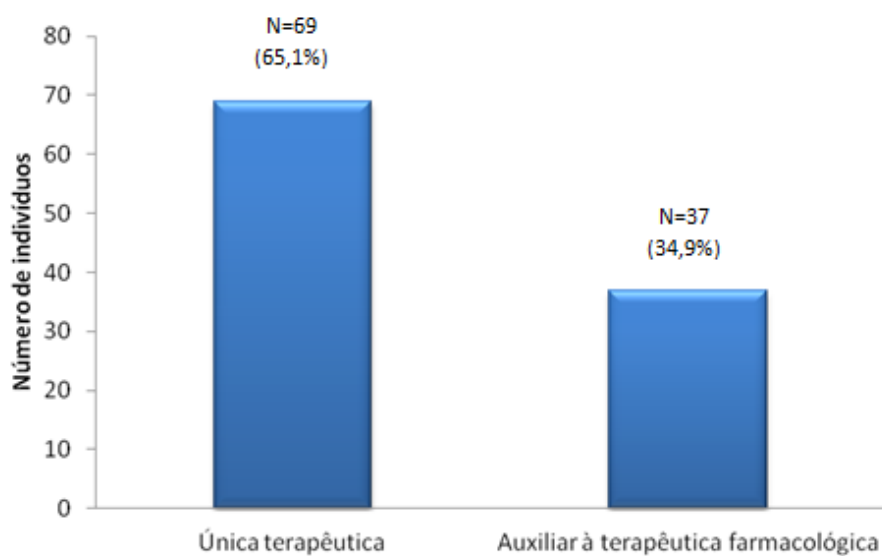


Gráfico 6. Indivíduos que utilizam as termas como única terapêutica e auxiliar à terapêutica farmacológica.

Dos indivíduos que realizam termas há mais de um ano, 97,1% asseguraram que melhoraram consideravelmente e 85,7% diminuíram a toma de medicamentos após o tratamento termal. Os efeitos do tratamento são sentidos a médio/curto prazo por 68,6% dos inquiridos.

Coccheri *et al.* (2008), num estudo realizado em 297 centros termais em Itália, estudou a sintomatologia associada a diversas patologias reumatológicas, respiratórias, dermatológicas, ginecológicas, urinárias, vasculares e gastro-entéricas e concluiu que o tratamento termal diminui a taxa de absentismo laboral e conduz a uma diminuição da medicação, nomeadamente no consumo de antibióticos (7%), broncodilatadores (6,35%), antitússicos (5,8%) e mucolíticos (20,6%). Um estudo observacional realizado nas termas de Unhais da Serra (Belino, 2011), avaliou diversos parâmetros tais como, sintomas, recurso ao médico, uso de medicação para tratamento da CRS, avaliação funcional, avaliação global do doente e do médico, antes e após, 3 e 6 meses depois do tratamento. Neste estudo observou-se um balanço negativo imediatamente após tratamento, uma vez que os sintomas pioravam comparativamente com o período anterior ao tratamento, contudo após 6 meses, evidenciaram-se melhoras significativas dos sintomas. Para além disso, 18,2% dos 55 doentes dispensaram medicação logo após tratamento termal. Desta forma, ambos os estudos corroboram que o tratamento termal diminui os sintomas e a toma de medicação para o tratamento de patologias respiratórias.

3.2 Caracterização da flora microbiana nasal e orofaríngea

O trato respiratório superior é colonizado por um amplo grupo de bactérias que em condições particulares, como a alteração do equilíbrio habitual, podem causar patologia. No caso específico da rinite alérgica e CRS, o desequilíbrio é causado por uma forte resposta inflamatória, conduzindo à acumulação de células e fatores pro-inflamatórias que levam ao dano tecidual, acumulação e desenvolvimento de bactérias que podem tornar-se patológicas.

Desta forma, no presente estudo pretendeu-se avaliar o tipo e a variação do teor bacteriano ao nível da flora microbiana nasal e orofaríngea de indivíduos com rinite alérgica e CRS, antes e após o tratamento termal.

Nas tabelas 4 e 5 estão representados os resultados do tipo colonização na flora nasal e orofaríngea de todos os indivíduos, antes do tratamento termal, bem como, o número e percentagem de indivíduos em que se observou diminuição da colonização após tratamento. É importante referir que 6 dos 106 doentes incluídos no estudo não apresentaram colonização a nível nasal (2 indivíduos com rinite alérgica e 4 com CRS).

Tabela 4. Descrição da colonização nasal do número total de indivíduos antes e depois do tratamento termal.

Tipo de colonização nasal antes do tratamento termal	Número de indivíduos colonizados	Número de indivíduos que reduziram a colonização após tratamento termal	Percentagem de indivíduos que reduziram a colonização após tratamento termal	p*
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	61	39	63,9%	0,072
Bacilos Gram positivo	45	16	35,6%	0,553
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	16	55,2%	0,008
<i>Streptococcus spp.</i>	9	7	77,8%	0,053
<i>Neisseria spp.</i>	8	6	75%	0,024
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0%	-
<i>Proteus spp.</i>	2	2	100%	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1	100%	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	0%	-

*Teste de Wilcoxon

Tabela 5. Descrição da colonização orofaríngea do número total de indivíduos antes e depois do tratamento termal.

Tipo de colonização orofaríngea antes do tratamento termal	Número de indivíduos colonizados	Número de indivíduos que reduziram a colonização após tratamento termal	Percentagem de indivíduos que reduziram a colonização após tratamento termal	p *
<i>Streptococcus</i> spp.	106	1	0,94%	0,317
<i>Neisseria</i> spp.	45	23	51,1%	0,010
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	2	2	100%	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	100%	-
Bacilos gram positivos	1	1	100%	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	100%	-

* Teste de Wilcoxon

Nesta fase inicial, observou-se que as bactérias mais prevalentes na flora nasal eram os *Staphylococcus* coagulase negativa, bacilos Gram positivo e *S. aureus* (Tabela 4) e na flora orofaríngea os *Streptococcus* α - hemolíticos e *Neisseria* spp. (Tabela 5). Para além disso, verificou-se também que a nível nasal todas as estirpes isoladas diminuíram o seu número após o tratamento à exceção do género *Klebsiella*. Na orofaringe, observou-se uma taxa de redução de colonização igual ou superior a 50%, com exceção dos *Streptococcus* spp..

Um estudo realizado por Pandak *et al.* (2011), demonstrou resultados semelhantes ao nível da colonização nasal. Este autor, após cultura de zaragatoas provenientes de seios etmoidais e maxilares de 65 doentes com CRS submetidos a cirurgia, evidenciou que as bactérias mais frequentemente isoladas foram *Staphylococcus epidermidis* e *S. aureus*, corroborando os resultados obtidos na cultura inicial, uma vez que o género *Staphylococcus* é o mais abundante na flora nasal.

Posteriormente, avaliou-se o decréscimo global e os intervalos de contagem referentes a cada espécie bacteriana.

Os resultados antes do tratamento termal mostraram que 90 dos 106 (84,9%) doentes eram portadores de *Staphylococcus*. Dentro deste género, 58 dos 106 (54,7%) indivíduos eram portadores de *Staphylococcus* coagulase negativa, 26 dos 106 (24,5%) eram portadores de *S. aureus*. Por fim, 3 doentes (2,8%) estavam colonizados por ambas as estirpes de *Staphylococcus*.

Dado o elevado grau de colonização por *Staphylococcus* (84,9% do total de doentes) procurou-se verificar se um maior nível de colonização aumenta o recurso à urgência hospitalar por agravamento dos sintomas. Ao analisar os dados obtidos, não se observou qualquer associação visto que a maioria dos indivíduos que recorrem à urgência hospitalar apresenta um teor de colonização inicial entre 0 e 100 UFC, tanto de *S. aureus* como *Staphylococcus* coagulase negativa.

Com o objetivo de avaliar o decréscimo global de *Staphylococcus* coagulase negativa na flora nasal e orofaríngea determinou-se o número de indivíduos em que existiu diminuição da estirpe. Neste sentido, verificou-se que dos 61 indivíduos com colonização nasal por *Staphylococcus* coagulase negativa, 39 (63,9%) apresentaram um decréscimo nessa colonização após tratamento termal (Tabela 4).

Ao comparar os resultados iniciais e finais do nível de colonização de *Staphylococcus* coagulase negativa da flora nasal verificou-se uma diminuição abrupta do nível de maior colonização (1000 UFC) de 31 para 15 doentes e uma redistribuição por níveis mais baixos de colonização (Gráfico 7).

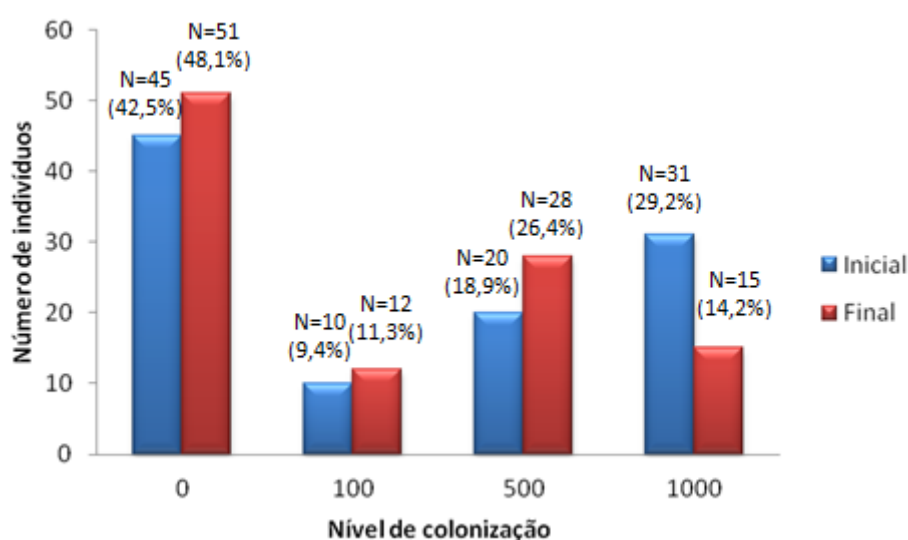


Gráfico 7. Nível de colonização de *Staphylococcus* coagulase negativa na flora nasal antes e após o tratamento termal.

Quanto à flora orofaríngea, apenas foram isolados *Staphylococcus* coagulase negativa em 2 doentes com um nível de colonização de 1000 UFC, os quais desapareceram após tratamento termal (Tabela 6).

Tabela 6. Nível de colonização de *Staphylococcus* coagulase negativa na flora da orofaringe antes e após do tratamento termal.

Nível de colonização de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa na orofaringe	Inicial	Final
0	104 (98,1%)	106 (100%)
100	0 (0%)	0 (0%)
500	0 (0%)	0 (0%)
1000	2 (1,9%)	0 (0%)
Total	106 (100%)	106 (100%)

Quanto ao *S. aureus* na flora nasal, observou-se um decréscimo do teor microbiano em 16 dos 29 indivíduos que apresentaram esta estirpe inicialmente, correspondendo a uma diminuição de colonização de 55,2%. (Tabela 4).

No que concerne aos intervalos de colonização de *S. aureus* na flora nasal (Gráfico 8), verificou-se um decréscimo do nível de colonização mais elevado (1000 UFC) de 17,9 para 7,5%, aumentando por sua vez os níveis de teor bacteriano inferiores (100 e 500 UFC), inclusive a ausência de estirpe isolada (72,6% para 77,4%).

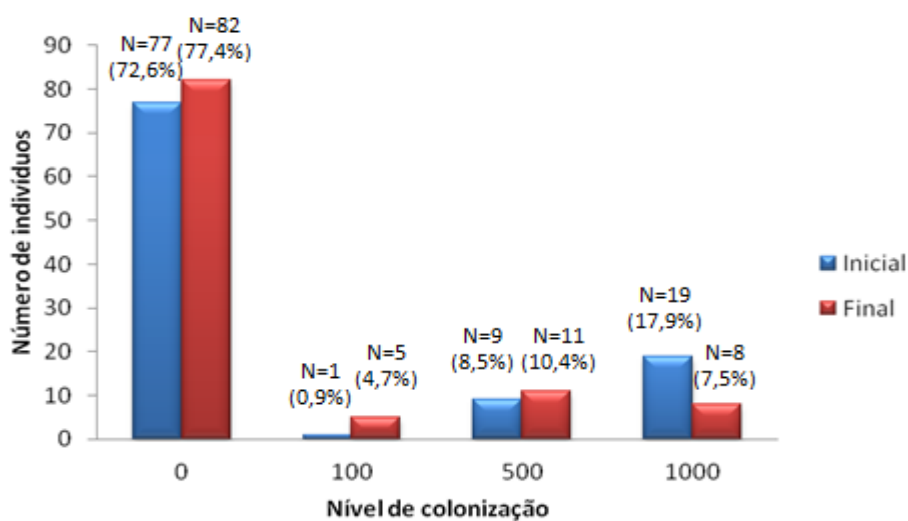


Gráfico 8. Nível de colonização de *S. aureus* na flora nasal antes e após o tratamento termal.

Na orofaringe, esta estirpe apenas foi isolada num doente, com um nível de colonização inicial de 1000 UFC, decrescendo para 500 UFC após tratamento (Tabela 7).

Tabela 7. Nível de colonização de *S. aureus* na flora da orofaringe antes e após tratamento termal.

Nível de colonização de <i>S. aureus</i> na orofaringe	Inicial	Final
0	105 (99,1%)	105 (99,1%)
100	0 (0%)	0 (0%)
500	0 (0%)	1 (0,9%)
1000	1 (0,9%)	0 (0%)
Total	106 (100%)	106 (100%)

De referir que 1 dos 29 indivíduos colonizados a nível nasal e o único isolado presente na orofaringe de *S. aureus* eram meticilina resistentes (MRSA). Ambos, apresentaram um nível de colonização inicial de 1000 UFC e diminuíram para 500 UFC após o tratamento termal.

Alguns estudos têm demonstrado que o *S. aureus* é uma das bactérias mais predominantes nas vias áreas superiores e que através dos seus superantigénios conduz à exacerbação da inflamação nas vias áreas superiores, nomeadamente na rinite alérgica e CRS (Bachert *et al.*, 2002; Refaat *et al.*, 2008; Clark *et al.*, 2011).

Refaat *et al.* (2008), realizou um estudo com o objetivo de determinar a prevalência de *S. aureus* em indivíduos com rinite alérgica persistente e associar a sua presença com alguns marcadores inflamatórios. Para tal utilizou 20 indivíduos não fumadores alérgicos a pó doméstico e 20 indivíduos não fumadores saudáveis, concluindo que existe uma maior taxa de colonização desta bactéria em indivíduos com rinite alérgica do que indivíduos saudáveis e uma correlação positiva entre a presença deste microrganismo e Ig E total e IL-4, moléculas intervenientes no processo inflamatório. Clark *et al.* (2011), observou através de um estudo retrospectivo, envolvendo 96 doentes com CRS (62 com CRS com pólipos nasais e 34 com CRS sem pólipos nasais) que o *S. aureus* era a bactéria mais frequentemente encontrada nos indivíduos com CRS com pólipos nasais, estando a sua presença associada com elevados níveis de Ig E (>114IU/ml). Estes resultados são explicados pela capacidade dos superantigénios de *S.*

aureus produzirem uma ativação T policlonal, produzindo IgE específica contra o alérgeno, nas mucosas. Esta Ig E específica contra os superantígenos vai criar uma sensibilização constante de células inflamatórias e a liberação dos seus mediadores, conduzindo a uma inflamação crónica. É importante referir que os superantígenos também inibem os linfócitos T reguladores que normalmente controlam os processos de inflamação (Refaat *et al.*, 2008).

Além dos superantígenos, atualmente, já se encontra amplamente descrita a formação de biofilmes na CRS (entre 25% e 100%). A inflamação e o dano tecidual são um excelente substrato para a adesão bacteriana e consequente formação de biofilmes (Hunsaker e Leid, 2008). Os biofilmes permitem a resistência contra agentes antimicrobianos e as defesas do hospedeiro, sendo muitas vezes associados à cronicidade (Hunsaker e Leid, 2008; You *et al.*, 2011). Larson e Han (2011), afirmaram com base em estudos moleculares, que a capacidade patogénica de *Staphylococcus coagulase negativa* está associada à formação de biofilmes.

Desta forma, demonstrou-se que os superantígenos e os biofilmes podem ter um papel sinérgico, aumentando por um lado, a inflamação e o dano tecidual possibilitando a proliferação de bactérias e, por outro, a sua fixação e resistência às defesas do hospedeiro.

Quanto à presença de MRSA's, apesar de apenas serem encontrados dois doentes colonizados com MRSA neste estudo, Brook *et al.* (2008) evidenciaram um aumento da frequência de *S. aureus* metilicina resistentes entre o período 2001-2003 e o período 2004-2006 em sinusite aguda e crónica. A redução do nível de colonização desta estirpe após o tratamento termal é um dado interessante e algo a ter em conta em futuros estudos, verificando-se a sua significância estatística.

Dada a elevada prevalência de *S. aureus* na rinite alérgica e CRS e os diversos mecanismos de resistência aos antimicrobianos e contra as defesas do hospedeiro, é importante encontrar tratamentos alternativos.

Neste sentido, como os resultados anteriormente evidenciados sugerem, o tratamento termal pode ser uma alternativa, uma vez que a água sulfúrea permite uma redução de cerca de 50% no teor de *Staphylococcus*, diminuindo a inflamação e o dano tecidual e, consequentemente, levando à melhoria gradual da sintomatologia (Thornton *et al.*, 2011).

Ottaviano *et al.* (2011) realizou um estudo comparativo do efeito da água termal e soro fisiológico, no qual recrutou 80 indivíduos com CRS não alérgica, separando-os posteriormente em 2 grupos, em que um realizava tratamento com água termal e o outro com solução isotônica de cloreto de sódio. No grupo que realizou tratamento com água termal isolaram inicialmente *S. aureus* em 5 doentes e no outro grupo apenas 4 apresentaram colonização por esta bactéria, contudo no final do tratamento observou-se que em ambos os grupos a colonização tinha desaparecido. Por outro lado, só no grupo que realizou tratamento com água termal observou uma redução significativa da resistência nasal. Desta forma, pode concluir-se que apenas a água termal teve o poder de anular ou diminuir significativamente a inflamação, largamente responsável pelo aumento da resistência nasal característica das patologias estudadas.

Staffieri e Abramo (2007), num estudo realizado com 37 doentes com CRS tratados durante 12 dias com água termal, evidenciaram melhoras significativas no fluxo nasal, redução do tempo médio de transporte mucociliar de valores patológicos para valores fisiológicos e uma significativa redução da presença de bactérias ao nível nasal.

Salami *et al.* (2010) afirmaram que as águas sulfúreas têm a capacidade de inibir a síntese de adesinas bacterianas e a consequente formação de biofilmes.

Rinaldi *et al.* (2006), num estudo realizado *in vitro* sobre o efeito do hidrogenossulfureto nos polimorfonucleares, concluiu que o hidrogenossulfureto tem a capacidade de atrasar a apoptose dos granulócitos, contribuindo inicialmente para uma defesa inflamatória aguda e bactericida e, consequentemente, prevenir o desenvolvimento de um processo inflamatório crónico.

Por outro lado, Mirandola *et al.* (2007) num estudo *in vitro* demonstrou que o hidrogenossulfureto apresenta um efeito tóxico sobre os linfócitos T, decrescendo a sua proliferação em resposta à IL-2.

Predmore B *et al.* (2012), mostrou que o hidrogenossulfureto é um potente inibidor da adesão de leucócitos ao endotélio vascular.

Deste modo, o efeito da água termal manifesta-se não só na inflamação, com o aumento da sobrevivência dos granulócitos, a diminuição da proliferação dos linfócitos T e decréscimo da adesão dos leucócitos ao endotélio vascular, mas também na redução do número de bactérias, evidenciando o seu efeito bactericida, proporcionando uma melhoria dos sintomas, melhoria da qualidade de vida e decréscimo da toma de medicação.

No que diz respeito aos *Streptococcus* α -hemolíticos na flora nasal observou-se uma redução do teor bacteriano em 7 dos 9 indivíduos em que esta estirpe foi isolada inicialmente, ou seja, uma redução de 77,8% (Tabela 4).

Quanto aos níveis de colonização evidenciou-se uma redução do nível de colonização 1000 UFC para o nível 500 UFC e para a ausência desta bactéria (Gráfico 9).

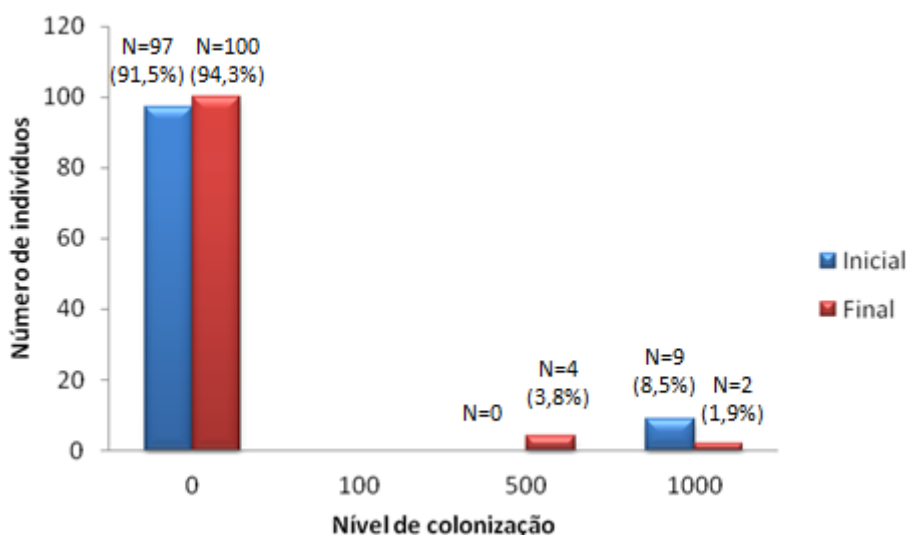


Gráfico 9. Nível de colonização de *Streptococcus* α -hemolíticos na flora nasal antes e após o tratamento termal.

Quanto à flora da orofaringe, apenas um dos doentes apresentou decréscimo do teor bacteriano após tratamento termal do nível de colonização de 1000 UFC para 500 UFC (Tabela 8).

Tabela 8. Nível de colonização de *Streptococcus* α -hemolíticos na orofaringe antes e após tratamento termal.

Nível de colonização de <i>Streptococcus</i> α -hemolíticos na orofaringe	Inicial	Final
0	0 (0%)	0 (0%)
100	0 (0%)	0 (0%)
500	1 (0,9%)	2 (1,9%)
1000	105 (99,1%)	104 (98,1%)
Total	106 (100%)	106 (100%)

Os *Streptococcus* α -hemolíticos fazem parte da flora comensal do trato respiratório superior. Contudo um estudo realizado por Deng e Peng (2012), em que foram cultivadas 111 amostras provenientes dos seios maxilares e etmoides de indivíduos sujeitos a cirurgia e, em paralelo, amostras de fluidos nasais de indivíduos saudáveis, evidenciaram, entre outras bactérias, a presença de *Streptococcus viridans*, tanto em indivíduos saudáveis como doentes. Neste sentido, é necessário avaliar a sua presença face a interações bacterianas que produz, visto que esta estirpe produz bacteriocinas que podem levar por um lado, ao desaparecimento de microrganismos da flora comensal e, por outro, promover a colonização por um microrganismo patogénico (Pinheiro, 2011). Desta forma, conclui-se que a sua eliminação ao nível nasal pode potenciar um efeito benéfico de forma a prevenir a inflamação pelo desequilíbrio da flora comensal, a qual também engloba microrganismos potencialmente patogénicos.

Relativamente ao género *Neisseria* spp. na flora nasal, após tratamento termal, observou-se uma redução do nível de colonização em 6 dos 8 (75%) indivíduos nos quais esta estirpe foi isolada (Tabela 4). Quanto à variação do nível de colonização observou-se um aumento no número de amostras sem esta estirpe de 98 para 103 e uma diminuição do número de indivíduos com o nível de colonização mais elevado (1000 UFC) de 6 para 1 (Gráfico 10).

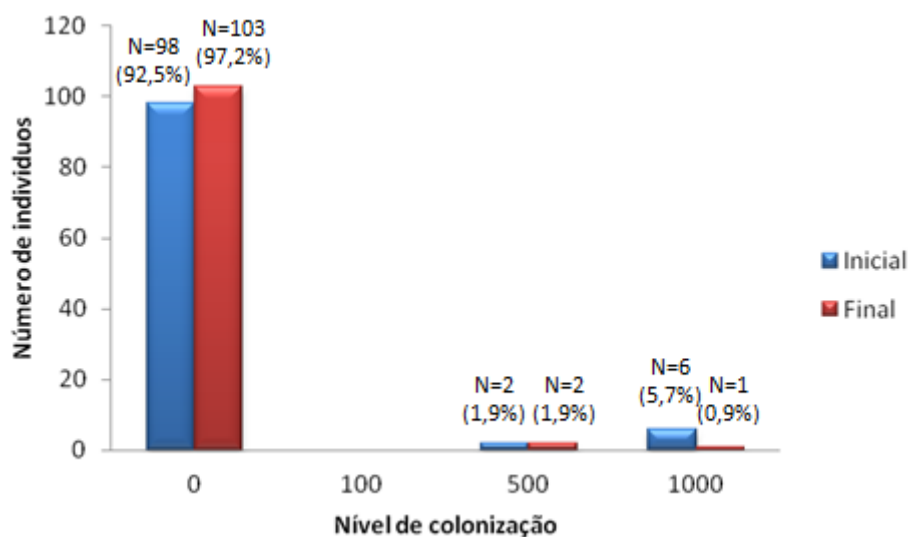


Gráfico 10. Nível de colonização de *Neisseria* spp. na flora da nasal antes e após o tratamento termal.

Ao nível da orofaringe verificou-se um decréscimo de 51,1% no teor bacteriano do género *Neisseria*, ou seja, 23 dos 45 indivíduos portadores desta bactéria apresentaram redução da quantidade de UFC após o tratamento termal (Tabela 5).

Similarmente ao que acontece na flora nasal, na orofaringe verificou-se uma diminuição significativa no nível de colonização mais elevado (1000 UFC) de 35,8% para 23,6% e um aumento expressivo da ausência deste género de 57,5% para 68,9% após o tratamento termal (Gráfico 11).

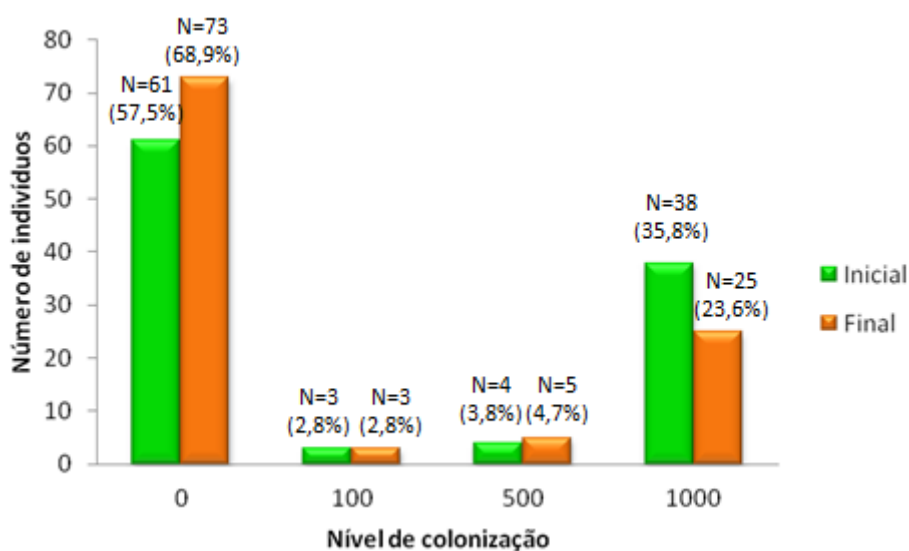


Gráfico 11. Nível de colonização de *Neisseria* spp. na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal.

O género *Neisseria* é considerado flora comensal ao nível do trato respiratório superior, contudo a nível da morfologia microscópica é difícil distingui-lo da *M. catarrhalis* (ambos diplococos Gram negativo), amplamente descrita como agente patogénico oportunista interveniente na CRS. Desta forma, conclui-se que a eliminação dos cocos Gram negativos pode ser uma vantagem, reduzindo a inflamação e consequentemente o dano tecidular.

Em relação aos Bacilos Gram positivos, 16 em 45 doentes diminuíram a sua colonização na flora nasal após o tratamento termal (Tabela 4). Quanto à variação do teor de UFC verificou-se um decréscimo de 36,8% para 30,2% no nível de colonização mais elevado (1000 UFC), aumentando os níveis 500 UFC e a ausência desta estirpe bacteriana (Gráfico 12).

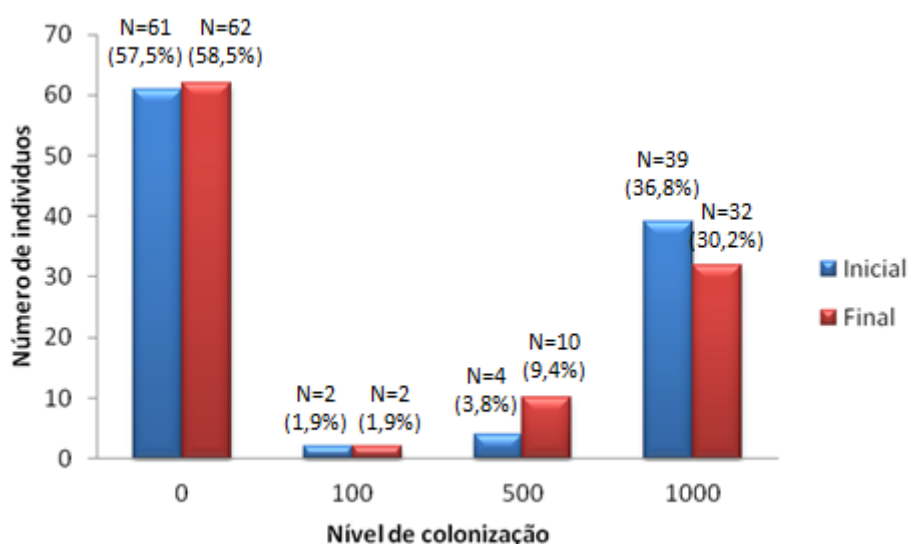


Gráfico 12. Nível de colonização de bacilos Gram positivo na flora nasal antes e após o tratamento termal

Quanto à flora orofaríngea, inicialmente apenas foram isolados bacilos Gram positivo num indivíduo, havendo um decréscimo de 1000 UFC para ausência de colonização, após o tratamento termal (Tabela 9).

Tabela 9. Nível de colonização de Bacilos Gram positivo na flora da orofaringe antes e após do tratamento termal.

Nível de colonização de Bacilos Gram positivo na flora orofaringe	Inicial	Final
0	105 (99,1%)	106 (100%)
100	0 (0%)	0 (0%)
500	0 (0%)	0 (0%)
1000	1 (0,9%)	0 (0%)
Total	106 (100%)	106 (100%)

Para além das bactérias já referidas foram isolados e identificados outros microrganismos a nível nasal, tais como, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e *Proteus* spp. Estes microrganismos apenas foram isolados na flora de 5 dos 106 indivíduos incluídos na amostra, representando 4,7% do número total de indivíduos. Destes 5 doentes, 3 registaram diminuição da colonização inicial de 2 amostras de *Proteus* (1000 para 0 UFC) e 1 de *Enterobacter aerogenes* (500 para 0 UFC) (Tabela 4).

Ao nível da orofaringe, para além dos microrganismos já mencionados, apenas foi isolado *Pseudomonas aeruginosa* com um nível de colonização de 100 UFC, que desapareceu após tratamento (Tabela 5).

Diversos autores têm evidenciado as propriedades bactericidas das águas de natureza sulfúrea. Primariamente, Ghersetich *et al.* (2001) e Matz *et al.* (2003), em estudos dermatológicos, atribuíram as propriedades bactericidas destas águas ao ácido pentatiónico ($H_2S_5O_6$) produzido na pele através da interação do enxofre com os radicais livres de oxigénio presentes em camadas mais profundas na pele. Estudos mais recentes (Salami *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2010), associam o efeito bactericida da água termal de natureza sulfúrea à presença de formas reduzidas de enxofre e à sua toxicidade. O mecanismo exato desta toxicidade ainda não está totalmente esclarecido, mas pensa-se que estará relacionado com a ação deste composto na precipitação de iões metálicos de enzimas da cadeia respiratória ou na destruição de proteínas intracelulares (Aerts, 2009).

Desta forma, poderá sugerir-se, que ambos os mecanismos possam ocorrer ao nível da mucosa nasal, demonstrando que a presença de compostos de enxofre pode estar associada a uma ação da água termal sulfúrea sobre algumas estirpes de bactérias Gram positivo e Gram negativo, uma vez que, o tratamento com água termal possibilitou uma redução estatisticamente significativa de *S. aureus* ($p=0,008$, Tabela 4) e género *Neisseria* spp. ($p=0,024$ Tabela 4 e $p=0,01$, Tabela 5).

Para além da atividade bactericida, têm sido atribuídas à água termal de natureza sulfúrea, diversas funções, tais como: ação mucolítica, atuando nas pontes dissulfureto e consequente aumento da fluidez do muco e diminuição da resistência nasal (Staffieri e Abramo, 2007; Salami *et al.*, 2008; Ottaviano *et al.*, 2011); ação trófica melhorando a *clearance* mucociliar através da redução da média de tempo do transporte mucociliar após tratamento (Staffieri e Abramo, 2007; Salami *et al.*, 2008); ação anti-inflamatória através do aumentando da Ig A, principal imunoglobulina presente nas mucosas e redução o número de eosinófilos locais e Ig E total, responsáveis pela libertação de mediadores pró-inflamatórios (Salami *et al.*, 2008; Staffieri *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2010); efeito antioxidante removendo as espécies reativas de oxigénio minimizando o dano tecidual (Salami *et al.*, 2008; Braga *et al.*, 2008); e funções imunomoduladoras, uma vez que, por um lado, inibe a atividade dos linfócitos T CD4+, e por outro, diminui a apoptose dos granulócitos, contribuindo desta forma para a fagocitose do agente patogénico e prevenção do desenvolvimento de um processo inflamatório crónico (Rinaldi *et al.*, 2006; Mirandola *et al.*, 2007). Neste sentido, pode sugerir-se que a água termal sulfúrea poderá ter um efeito não só na eliminação bacteriana, mas também no perfil inflamatório de cada indivíduo.

3.3 Perfil inflamatório

Dado a elevada taxa de colonização de *S. aureus* nas patologias estudadas em relação a indivíduos saudáveis, a grande capacidade de potenciar a resposta inflamatória do hospedeiro e algumas evidências (Pinheiro, 2011, Moita, 2011) do efeito bactericida da água sulfúrea sobre esta bactéria, tanto *in vitro* como *in vivo*, é importante avaliar as possíveis alterações na resposta inflamatória decorrentes da inalação destas águas.

3.3.1 Efeito da água termal sulfúrea no perfil inflamatório de portadores de *S. aureus*

Numa fase preliminar analisou-se o número de indivíduos colonizados por esta bactéria de acordo com a patologia. De seguida, quantificaram-se e caracterizaram-se as células do sangue periférico e as alterações nos diversos parâmetros inflamatórios: VS, PCR, C3, C4, Ig G, Ig A, Ig M, Ig E totais, Ig E específica a alérgenos inalantes (*Phadiatop*[®]), Ig E específica anti-enterotoxinas e triptase, antes e após o tratamento termal, em indivíduos com rinite alérgica e CRS colonizados ou não por *S. aureus*.

3.3.1.1 Caracterização dos portadores de *S. aureus*

Inicialmente, verificou-se que 3 dos 28 indivíduos com rinite alérgica e 26 dos 78 indivíduos com CRS apresentaram colonização inicial por *S. aureus*, ou seja, uma taxa de colonização de 10,7% e 33,3%, respetivamente.

Vários autores verificaram uma taxa de colonização nasal em indivíduos com rinite alérgica superior à obtida no nosso estudo, nomeadamente 21,4% (Baysoy *et al.*, 2007), 45 % (Shiomori *et al.*, 2000) e 80% (Refaat *et al.*, 2008).

Araújo *et al.* (2007) e Clark *et al.* (2011), demonstraram uma colonização de *S. aureus* em indivíduos com CRS de 31%, semelhante aos resultados obtidos no presente trabalho. No entanto, Niederfuhr *et al.* (2008) reportou que a taxa de colonização por esta bactéria em indivíduos com CRS varia entre 15 a 70%.

Dos 23 inquiridos que admitiram fumar ou eram ex-fumadores, verificou-se a colonização de *S. aureus* em 10, ou seja, uma taxa de colonização de 43,3%. No entanto, os indivíduos não fumadores apresentaram uma taxa de colonização bastante inferior, 26,7% de *S. aureus*. Desta forma, pode concluir-se que os hábitos tabágicos

podem potenciar a colonização por *S. aureus*. Brook *et al.* (2008), num estudo realizado com doentes com rinosinusite aguda e CRS, evidenciaram uma maior taxa de colonização por *S. aureus* em indivíduos fumadores que não fumadores, corroborando com os resultados obtidos no estudo.

3.3.1.2 Quantificação e caracterização das células do sangue periférico em indivíduos portadores de *S. aureus*

Os resultados das concentrações médias das diferentes linhagens celulares do sangue periférico em indivíduos com rinite alérgica e CRS colonizados ou não por *S. aureus*, antes e após o tratamento termal estão apresentados nas tabelas 10 e 11.

Após análise das tabelas 10 e 11, verificou-se que não existem diferenças significativas na maioria células do sangue periférico, tanto ao nível da avaliação inicial e final das contagens, como na variação antes e após o tratamento termal, em portadores e não portadores de *S. aureus*. Contudo, observou-se um maior número de eosinófilos iniciais ($p=0,032$) em doentes com rinite alérgica portadores de *S. aureus* (Tabela 10), sugerindo o papel preponderante desta estirpe na potenciação da resposta inflamatória alérgica. O reconhecimento das diferentes enterotoxinas produzidas pelo *S. aureus* por duas ou mais Ig E específicas adjacentes, provocam a sua agregação e a consequente ativação dos eosinófilos. Os eosinófilos ativos libertam uma ampla gama de mediadores inflamatórios: citocinas, prostaglandinas, leucotrienos e diversas proteínas catiónicas como a proteína básica major e proteína catiónica eosinofílica e peroxidase eosinofílica, capazes de exacerbar a inflamação e o dano tecidual. Apesar das diferenças estatisticamente significativas se encontrarem dentro dos intervalos de referência, esta variação pode indicar o carácter imunomodulador desta estirpe na resposta inflamatória, tal como foi demonstrado por Refaat *et al.* (2008).

Tabela 10. Variação da média do número total de células do sangue periférico de indivíduos portadores e não portadores de *S. aureus* com **rinite alérgica**, antes e após o tratamento termal.

Tipo de célula	Grupos	Antes do tratamento termal	Depois do tratamento termal	p
Leucócitos totais	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=3)	6187 ± 715	5747 ± 1058	0,183 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=23)	6077 ± 1239	6224 ± 1541	0,448 ^a
	p	0,883 ^b	0,610 ^b	
Neutrófilos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=3)	2843 ± 867	2926 ± 810	0,781 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=23)	3475 ± 966	3667 ± 1225	0,354 ^a
	p	0,294 ^b	0,323 ^b	
Linfócitos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=3)	2603 ± 1176	2150 ± 877	0,133 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=23)	2013 ± 597	1933 ± 653	0,309 ^a
	p	0,161 ^b	0,605 ^b	
Monócitos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=3)	363 ± 150	370 ± 130	1 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=23)	400 ± 157	422 ± 165	0,237 ^c
	p	0,648 ^d	0,490 ^d	
Eosinófilos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=3)	350 ± 147	276 ± 161	0,102 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=23)	165 ± 108	177 ± 95	0,158 ^c
	p	0,032^d	0,275 ^d	
Basófilos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=3)	27 ± 21	26 ± 13	0,655 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=23)	25 ± 11	26 ± 13	0,701 ^c
	p	0,940 ^d	1 ^d	

a. Teste t Student para amostras dependentes; b. Teste t Student para amostras independentes; c. Teste de Wilcoxon; d. Teste de Mann-Whitney U;

Tabela 11. Variação da média do número total das células do sangue periférico em indivíduos portadores e não portadores de *S. aureus* com **CRS**, antes e após tratamento termal.

Tipo de célula	Grupos	Antes do tratamento termal	Depois do tratamento termal	p
Leucócitos totais	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=26)	6932 ± 1666	6840 ± 1651	0,602 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=48)	6726 ± 1661	6707 ± 1632	0,916 ^a
	p	0,613 ^b	0,740 ^b	
Neutrófilos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=26)	4034 ± 1163	3932 ± 1226	0,551 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=48)	4026 ± 1231	3956 ± 1184	0,518 ^c
	p	0,910 ^d	1 ^d	
Linfócitos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=26)	2188 ± 739	2192 ± 675	0,960 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=48)	2064 ± 564	2108 ± 581	0,456 ^a
	p	0,459 ^b	0,596 ^b	
Monócitos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=26)	529 ± 399	515 ± 346	0,799 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=48)	420 ± 131	425 ± 123	0,735 ^c
	p	0,236 ^d	0,313 ^d	
Eosinófilos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=26)	154 ± 83	177 ± 140	0,359 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=48)	185 ± 126	188 ± 123	0,631 ^c
	p	0,618 ^d	0,398 ^d	
Basófilos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=26)	26 ± 13	25 ± 14	0,549 ^c
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=48)	31 ± 18	31 ± 19	0,598 ^c
	p	0,137 ^d	0,149 ^d	

a. Teste t-student para amostras dependentes; b. Teste t-student para amostras independentes; c. Teste de Wilcoxon; d. Teste de Mann-Whitney U.

Uma vez que, este estudo é pioneiro nesta análise celular ao nível do sangue periférico não existe literatura para comparação. Contudo, recentemente, alguns estudos têm evidenciado a diminuição de células inflamatórias a nível local após o tratamento termal. Staffieri e Abramo (2007), avaliaram a citologia nasal 37 doentes com CRS verificando uma redução significativa da média de neutrófilos após tratamento nasal. O autor considerou esta redução como benéfica, uma vez que estas células são essenciais na resposta inflamatória tecidual e alguns estudos referem o papel dos neutrófilos na hipersecreção do trato respiratório superior. Staffieri *et al.* (2008) evidenciaram através de biopsia da zona etmoide, uma redução significativa dos eosinófilos locais em indivíduos com CRS 6 meses após tratamento com água termal, concluindo que esta redução permitiu limitar a produção de citocinas e moléculas inflamatórias, e consequentemente o dano tecidual. Desta forma, apesar de não existirem variações após tratamento termal, seria interessante verificar a curto/médio prazo (3 a 6 meses após tratamento) a evolução das células ao nível do sangue periférico.

3.3.1.3 Caracterização dos parâmetros inflamatórios em indivíduos portadores de *S. aureus*

Nesta segunda fase, avaliou-se a resposta inflamatória antes e após tratamento dos indivíduos inquiridos através da determinação da VS, PCR, dos fatores do complemento C3 e C4, imunoglobulinas G, M e A, Ig E totais, Ig E específica a alérgenos inalantes (*Phadiatop*[®]), Ig E específica antienterotoxinas e triptase.

A VS é um analito inespecífico na caracterização de um processo inflamatório, infeccioso ou neoplásico, permitindo também quantificar a intensidade do mesmo (Dos Santos *et al.*, 2000). A PCR é um marcador da inflamação (Galez *et al.*, 2006). Neste estudo, estes dois analitos foram utilizados para a monitorização do processo inflamatório das patologias estudadas, antes e após o tratamento termal.

O sistema do complemento é um dos principais mecanismos efetores da resposta inata sendo a sua atuação major ao nível da defesa contra a infeção e na resposta inflamatória. O papel principal deste sistema é o reconhecimento e eliminação através de opsonização e fagocitose ou pela lise direta de microrganismos infetantes, onde C3 e C4 apresentam um papel central.

Quanto às imunoglobulinas, estudaram-se as formas solúveis presentes no sangue periférico, responsáveis pelas respostas humorais. A Ig M é produzida na sua forma pentamérica que constitui um importante activador do complemento e apresenta um tempo de semi-vida de 5 a 10 dias. A Ig A é a principal imunoglobulina de defesa contra microrganismos nas mucosas através da neutralização do agente patogénico e fixação do complemento pela via alternativa ou pela via das lectinas, apresentando um tempo de semi-vida de 6 dias. A Ig G é o tipo de imunoglobulina mais abundante no soro, apresenta elevada afinidade para o antígeno e uma grande estabilidade no soro com um período de semi-vida entre 7 a 24 dias. A Ig E está envolvida nos processos alérgicos e na defesa contra parasitas e, é de todas, a menos abundante e com menor tempo de semi-vida (2 dias), contudo pode permanecer ligada durante meses ao FcεRI presente nos macrófagos, eosinófilos e basófilos.

A triptase é um marcador de desgranulação dos mastócitos que contribuem para o processo inflamatório, e ao avaliar esta enzima pretende-se verificar o efeito da água termal sobre estas células.

No geral, verificaram-se alterações dos valores normais em 23 dos 106 doentes (21,7% da população de estudo) de rinite alérgica e CRS. Antes do tratamento termal encontraram-se as seguintes situações:

- 2 indivíduos com défice de C3 (C3<90 mg/dL);
- 1 indivíduo com C3 elevado (C3>180 mg/dL)
- 5 indivíduos com C4 elevado (C4>40 mg/dL);
- 1 indivíduo com C3 e C4 elevados (C3>180 mg/dL e C4>40 mg/dL)
- 1 indivíduo com défice de C3, Ig G e Ig M (C3<90 mg/dL; IgG<700 mg/dL; IgM<40 mg/dL);
- 1 indivíduo com C4 e Ig A elevados (C4>40 mg/dL e IgA >400 mg/dL);
- 1 indivíduo com défice de Ig G (IgG<700 mg/dL);
- 5 indivíduos com Ig A elevada (IgA>400mg/dL)
- 6 indivíduos com défice de Ig M (IgM<40 mg/dL).

Dos 10 indivíduos que evidenciaram défices de imunoglobulinas e/ou complemento, 3 (2 défices de Ig M e défice de Ig G) normalizaram as concentrações após tratamento termal.

Dos 6 indivíduos com défice de Ig M, 3 eram portadores de *S. aureus* e 2 deles diminuíram a colonização após tratamento (1000 para 500 UFC e 1000 para 100 UFC). De referir ainda que, destes 2 portadores de *S. aureus*, aquele que apresentou maior decréscimo (1000 para 100 UFC) foi um indivíduo que após tratamento aumentou os seus níveis de Ig M para valores normais. O défice de Ig M reduz a ativação do sistema do complemento, e consequentemente, diminui a opsonização, neutralização e lise dos agentes patogénicos.

Dos 2 indivíduos com défice de C3, ambos apresentaram colonização por *S. aureus* e um deles decresceu de um nível de colonização de 1000 UFC para 100 UFC após tratamento. O défice de C3 pode estar relacionado com ativação contínua do complemento nestes indivíduos, tanto por imunocomplexos (via clássica), como pelos resíduos de manose (via das lectinas) e peptidoglicano (via alternativa).

O indivíduo com défice de Ig G não apresentou qualquer colonização nasal, e o indivíduo com défice de Ig M, Ig G e C3 não estava colonizado por *S. aureus*.

Em suma, dos 10 indivíduos com défice de fatores de complemento e/ou imunoglobulinas, 5 estavam colonizados por *S. aureus* e em 3 deles a colonização diminuiu após tratamento (taxa de eficácia de 60%).

Deste modo, verificou-se que o défice de fatores de complemento e/ou imunoglobulina favorece uma maior taxa de colonização por *S. aureus* (5 colonizados em 10 (50%) indivíduos com défice na resposta imunológica versus 24 colonizados por esta estirpe em 96 (25%) indivíduos imunocompetentes).

Dos 13 indivíduos que apresentaram fatores do complemento e/ou imunoglobulinas aumentados, apenas um com valores elevados de C3 e C4 normalizou após tratamento termal. Verificou-se ainda que destes 13 indivíduos, apenas um com Ig A elevada e um com C4 e Ig A elevados estavam colonizados por *S. aureus*, tendo este último diminuído a colonização de 1000 para 0 UFC, após tratamento.

As concentrações elevadas de C3, C4 e Ig A antes do tratamento podem ser justificados pela presença de inflamação crónica nas patologias estudadas. A inflamação crónica estimula a produção contínua de C3 e C4 a nível hepático, sendo os valores basais superiores quando comparados com indivíduos saudáveis. Por outro lado, os linfócitos presentes nos centros germinativos dos órgãos linfóides secundários são estimulados a uma maior produção de Ig A.

Cui *et al.* (2009) num estudo envolvendo 72 doentes com CRSsNP, 95 doentes com CRSwNP e 110 indivíduos saudáveis, evidenciaram uma diminuição da imunoglobulina G3 (Ig G3) em indivíduos com CRSsNP e um aumento de C3 e MBL em pacientes com CRSwNP e CRSsNP, quando comparados com os controlos.

Seppänen *et al.* (2006) descreveram a presença de C4a *nulls* e de baixos níveis de Ig A, Ig G total e as suas subclasses, em indivíduos com CRS e rinosinusite aguda recorrente, quando comparados com indivíduos saudáveis.

May *et al.* (1999), detetaram níveis séricos baixos de imunoglobulinas em 22 de 245 indivíduos com CRS refratária ao tratamento. Dezassete destes indivíduos mostraram deficiência de Ig G, e os restantes cinco, apresentaram défices de duas ou mais classes de imunoglobulinas (Ig A, Ig M e Ig G).

May *et al.* (1999) e Cui *et al.* (2009) corroboram parcialmente os resultados obtidos, apresentando os défices em algumas classes imunoglobulinas como uma das causas de CRS, ou seja, uma menor ativação do complemento e a diminuição da opsonização conduz à redução da neutralização do agente patogénico, favorecendo o desenvolvimento bacteriano, e por sua vez, o estado inflamatório. Apesar de nos resultados obtidos a Ig G total estar geralmente dentro dos valores de referência, seria interessante verificar se não existem défices de subclasses desta imunoglobulina também importantes no reconhecimento antigénico e fixação do complemento.

Quanto ao sistema do complemento, existem poucos estudos desenvolvidos que o associem à CRS (Cui *et al.*, 2009) e rinite alérgica. Contudo os resultados obtidos contrariam os estudos consultados (Seppänen *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2009), evidenciando principalmente aumentos de C4 e défices de C3.

Após a avaliação das variações individuais do complemento e/ou imunoglobulinas antes do tratamento, o passo seguinte foi avaliar as médias de cada parâmetro inflamatório antes e após o tratamento termal, de modo a verificar a existência de diferenças significativas (Tabela 12).

Ao analisar a tabela 12, observou-se um aumento estatisticamente significativo de Ig M, Ig A e triptase após tratamento termal.

Tabela 12. Média dos parâmetros inflamatórios dos 106 indivíduos incluídos no estudo.

Parâmetro inflamatório	Antes do tratamento termal	Após tratamento termal	p
VS	9 ± 4 *	10 ± 6 *	0,282 ^a
PCR	0,2 ± 0,1 *	0,2 ± 0,1 *	0,979 ^a
C3	123 ± 21	125 ± 20	0,102 ^b
C4	27 ± 9	28 ± 9	0,681 ^a
Ig G total	1074 ± 212	1091 ± 219	0,113 ^b
Ig A total	252 ± 100	258 ± 100	0,002 ^a
Ig M total	107 ± 82	111 ± 88	< 0,001 ^a
Ig E total	30 ± 12 *	32 ± 12 *	0,897 ^a
Triptase	5,5 ± 2,2	5,8 ± 2,3	< 0,001 ^a

a. Teste de Wilcoxon; b. Teste t Student para amostras emparelhadas; * Mediana ± quartil.

O aumento de Ig M e Ig A evidenciou o efeito anti-inflamatório (Salami *et al.*, 2008) do tratamento termal, promovendo o reconhecimento do agente patogénico para a fagocitose e/ou ativação do complemento. Contudo, como a Ig E intervém nos processos inflamatórios e tem uma semivida de 2 dias, e a Ig A, é responsável pela defesa das mucosa e tem uma semivida de 6 dias, seriam hipoteticamente as imunoglobulinas que sofreriam alterações após 12 dias de tratamento termal nas patologias estudadas. No entanto, diversos estudos internacionais recentes evidenciaram diferentes realidades (Staffieri *et al.*, 2007; Salami *et al.*, 2008; Salami *et al.*, 2010).

Staffieri e Abramo (2007) realizaram um estudo englobando 37 indivíduos com CRS e não documentaram nenhuma variação na média das imunoglobulinas analisadas (Ig A, M, G), antes e após o tratamento termal.

Salami *et al.* (2008), realizaram um estudo que incluiu 100 crianças com infecções recorrentes do trato respiratório para avaliarem, além de outros parâmetros, o efeito da água sulfúrea a nível inflamatório. As 100 crianças foram subdivididas em dois grupos: um realizou inalações durante 12 dias com água sulfúrea (grupo A) e o outro, inalações com soro fisiológico (grupo B) pelo mesmo período de tempo. Quando comparado com o grupo B, as crianças que realizaram tratamento com água termal apresentaram uma redução da Ig E e um aumento de Ig A após tratamento. As imunoglobulinas G e M não apresentaram qualquer alteração.

Salami *et al.* (2010), avaliaram o efeito da água termal em indivíduos com CRS. Para tal, 80 indivíduos com esta patologia foram subdivididos em dois grupos: um realizava tratamento com água termal sulfúrea (grupo A), e o outro, efetuava inalações com soro fisiológico (grupo B), ambos com duração de tratamento de 12 dias, avaliando as alterações no fim de tratamento e após 3 meses do início do mesmo. O autor, comparando com o grupo B, documentou que os indivíduos que fizeram tratamento com água termal sulfúrea apresentaram uma diminuição significativa de Ig E após tratamento e 3 meses após início de tratamento, no entanto, nestes doentes o aumento de Ig A não foi estatisticamente significante em ambos os períodos de avaliação.

Dada a discrepância entre os estudos internacionais são necessários estudos futuros de forma a fundamentar esta variabilidade e verificar também a sua variação a curto/médio prazo (3 a 6 meses após tratamento).

Outro resultado inesperado foi o aumento da triptase, uma vez que o hidrogenossulfureto (presente na água termal sulfúrea) está documentado como inibidor dos linfócitos T CD4+ *in vitro* (Mirandola *et al.*, 2007). Assim, hipoteticamente, a inibição destas células conduziria a uma menor produção de Ig E e, consequentemente, a uma diminuição de Ig E específica para o alérgeno na superfície dos mastócitos, diminuindo a sua desgranulação e a concentração de triptase após tratamento.

Apesar dos aumentos significativos de Ig A, Ig M e triptase após tratamento termal, verifica-se que não apresentam relevância clínica pois encontram-se dentro dos valores de referência. Contudo, Salami *et al.* (2008) considerou os aumentos de Ig A, mesmo dentro de valores normais, um efeito anti-inflamatório resultante da terapêutica com água sulfúrea. Desta forma, similarmente à Ig A, os aumentos de Ig M podem ser considerados efeitos anti-inflamatórios uma vez que intervêm na neutralização do agente patogénico, minimizando a inflamação e dano tecidual.

Após a análise geral dos parâmetros inflamatórios, averiguou-se se a sua variação se mantinha em indivíduos portadores e não portadores de *S. aureus* (Tabela 13).

Assim, verificou-se que não existe variação na média de nenhum parâmetro inflamatório de indivíduos portadores de *S. aureus*, apesar da diminuição de 55,6% da colonização nasal evidenciada anteriormente. No entanto, nos indivíduos não portadores desta estirpe, observou-se um aumento estatisticamente significativo de Ig A, Ig M e triptase, tal como anteriormente evidenciado.

Desta forma, conclui-se que o aumento de Ig A, Ig M e triptase está apenas associado aos indivíduos não portadores de *S. aureus* que representam a maioria da população de estudo (71%). Contudo, com base na diminuição do teor microbiano do *S. aureus*, estudos a médio/curto prazo poderão evidenciar diferenças significativas no perfil inflamatório de portadores desta estirpe.

Tabela 13. Média dos parâmetros inflamatórios dos 100 doentes com colonização bacteriana divididos por portadores e não portadores de *S. aureus*.

Parâmetro inflamatório	Grupos	Antes do tratamento termal	Depois do tratamento termal	p
VS	Portadores de <i>S. aureus</i>	32 ± 4 *	9 ± 6 *	0,710 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	9 ± 5 *	10 ± 6 *	0,710 ^a
	p	0,846 ^c	0,936 ^c	
PCR	Portadores de <i>S. aureus</i>	0,1 ± 0,1 *	0,2 ± 0,1 *	0,771 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	0,2 ± 0,1 *	0,2 ± 0,1 *	0,910 ^a
	p	0,385 ^c	0,781 ^c	

C3	Portadores de <i>S. aureus</i>	120 ± 18	121 ± 19	0,416 ^b
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	123 ± 23	125 ± 20	0,333 ^b
	p	0,479 ^d	0,423 ^d	
C4	Portadores de <i>S. aureus</i>	25 ± 9	25 ± 9	0,653 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	28 ± 8	29 ± 9	0,590 ^a
	p	0,254 ^c	0,151 ^c	
Ig G total	Portadores de <i>S. aureus</i>	1027 ± 168	1027 ± 165	0,922 ^b
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	1092 ± 222	1108 ± 221	0,129 ^b
	p	0,148 ^d	0,063 ^d	
Ig A total	Portadores de <i>S. aureus</i>	238 ± 86	240 ± 84	0,296 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	259 ± 109	266 ± 109	0,016^a
	p	0,479 ^c	0,321 ^c	
Ig M total	Portadores de <i>S. aureus</i>	95 ± 65 *	97 ± 69 *	0,258 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	92 ± 75 *	100 ± 78 *	<0,001^a
	p	0,747 ^c	0,440 ^c	
Ig E total	Portadores de <i>S. aureus</i>	46 ± 12 *	54 ± 11 *	0,6 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	28 ± 11 *	29 ± 12 *	0,286 ^a
	p	0,453 ^c	0,489 ^c	
Triptase	Portadores de <i>S. aureus</i>	5,7 ± 2,2	6,1 ± 2,3	0,06 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	5,2 ± 2,1	5,5 ± 2,2	0,003^a
	p	0,327 ^c	0,366 ^c	

a. Teste de Wilcoxon; b. Teste t Student para amostras dependentes; c. Teste Mann-Whitney; d. Teste t Student para amostras independentes; * Mediana ± quartil.

3.3.1.3.1 Caracterização da população quanto à atopia

Para identificar indivíduos atópicos foi determinada a concentração de Ig E específica para uma mistura de alérgenos inalantes (*Phadiatop*®), que permite determinar a sensibilização atópica a esses alérgenos específicos (Tabela 14).

Tabela 14. Caracterização da amostra em função da atopia.

Ig E específica a alérgenos inalantes	Rinite alérgica	CRS	Total
Atópicos	9 (32,1%)	14 (17,9%)	23 (21,7%)
Não atópicos	19 (67,9%)	64 (82,1 %)	83 (78,3%)
Total	28 (100%)	78 (100%)	106 (100%)

Os resultados mostram uma prevalência de atopia de 32,1% e de 17,9%, respetivamente na rinite alérgica e na rinossinite crónica.. No caso da rinite alérgica o valor de prevalência é inferior ao esperado e ao descrito em diferentes estudos já realizados, nomeadamente 61,9% (Shiue *et al.*, 2010) e 72% (Xu *et al.*, 2006).

3.3.1.3.2 Indivíduos portadores de *S. aureus* e a atopia

Com o objetivo de determinar a relação entre a atopia e a colonização de *S. aureus* elaborou-se o gráfico 13. Como 6 indivíduos não são colonizados a nível nasal, foram retirados desta abordagem, obtendo-se desta forma, 21 atópicos e 79 não atópicos.

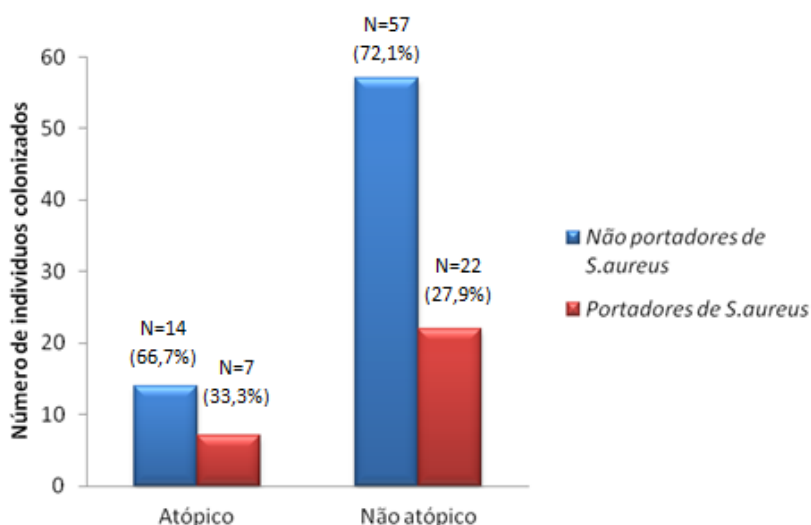


Gráfico 13. Colonização de *S. aureus* de acordo com a atopia.

Dos 21 indivíduos atópicos apenas 7 são colonizados por *S. aureus*. Destes *S. aureus* isolados em indivíduos atópicos, apenas 2 eram produtores de enterotoxinas: um produtor de enterotoxina A e B e o outro produtor de enterotoxina C.

Quanto aos não atópicos, 22 dos 79 indivíduos foram colonizados por esta estirpe e apenas 3 eram produtores de enterotoxinas: 1 produtor de enterotoxina C, 1 produtor de enterotoxina TSST-1 e por fim, um produtor de enterotoxina A, B e C.

Desta forma, verifica-se que a colonização de *S. aureus* parece não estar relacionada com a atopia, tal como, Niederfuhr *et al.* (2008) concluíram num estudo realizado em indivíduos com CRS, a maioria da população deste estudo. Contudo, Riechelmann e colaboradores (2005) num estudo envolvendo indivíduos alérgicos a pó doméstico e indivíduos saudáveis evidenciaram que o *S. aureus* é mais frequente em indivíduos alérgicos.

Apesar dos resultados não relacionarem a atopia com a colonização por esta estirpe, é importante avaliar se os portadores de *S. aureus* apresentam maior nível de Ig E total que os não portadores, dada a sua capacidade de aumentar uma resposta proliferativa Th2, através da produção de enterotoxinas (Tabela 15).

Tabela 15. Média da concentração de Ig E total antes e após tratamento termal em indivíduos atópicos e não atópicos, portadores e não portadores de *S. aureus*.

		Média da concentração de Ig E total (intervalo de concentrações)		p
		Antes do tratamento termal	Após tratamento termal	
Atópicos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=7)	158 (45,7 - 566)	154 (56,5 - 530)	1 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=14)	130 (18- 360)	125 (13,4 - 271)	0,510 ^a
	p	0,971 ^b	0,913 ^b	
Não atópicos	Portadores de <i>S. aureus</i> (n=22)	50 (2 - 195)	47 (2 - 179)	0,465 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i> (n=57)	33 (2 - 148)	36 (2 - 194)	0,468 ^a
	p	0,689 ^b	0,756 ^b	

a. Teste de Wilcoxon; b. Teste de Mann-Whitney U;

Na tabela 15, observa-se que os portadores de *S. aureus* apresentaram em média maior concentração de Ig E total, tanto em indivíduos atópicos como não atópicos. O aumento de Ig E total pode ser explicado pela produção de Ig E específica antienterotoxinas do *S. aureus*. No entanto, esta variação não foi estatisticamente significativa e o número de *S. aureus* produtores de enterotoxinas foi reduzido.

Após a análise das médias, antes e após tratamento termal, verificou-se a diminuição da Ig E total em termos individuais após tratamento (Tabela 16).

Tabela 16. Diminuição da concentração de Ig E total em indivíduos atópicos e não atópicos, portadores e não portadores de *S. aureus*.

		Número total de indivíduos	Nº de indivíduos em que a concentração de Ig E total diminuiu após tratamento termal	Percentagem de diminuição da concentração de Ig E total	p
Atópicos	Portadores de <i>S. aureus</i>	7	3	42,8%	1 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	14	6	42,8%	0,510 ^a
Não atópicos	Portadores de <i>S. aureus</i>	22	13	59%	0,465 ^a
	Não portadores de <i>S. aureus</i>	57	24	42,1%	0,468 ^a
	Total	100	46	46%	0,557 ^a

a. Teste de Wilcoxon.

Os resultados apresentados na tabela 16 mostram que o tratamento termal promoveu uma diminuição da Ig E total superior a 40% em todos os indivíduos atópicos e não atópicos colonizados ou não por *S. aureus*. Desta forma, a diminuição da Ig E total nestes indivíduos, após tratamento, mostra o carácter anti-inflamatório destas águas, minimizando a desgranulação de mastócitos, basófilos e eosinófilos e consequente a inflamação e dano tecidual. Contudo, esta diminuição não foi estatisticamente significativa como anteriormente demonstrado.

V. Conclusão

A rinite e a CRS são patologias com ampla distribuição mundial que afetam milhares de pessoas em todo o mundo. Estas doenças estão associadas tanto a uma diminuição da qualidade de vida e de produtividade, como a elevados custos para os sistemas de saúde. Neste sentido, este estudo evidenciou as alterações microbiológicas e imunológicas em indivíduos com rinite alérgica e CRS, antes e após tratamento termal, de forma a promover um tratamento alternativo à terapêutica farmacológica.

Os resultados obtidos comprovaram o efeito da água termal sulfúrea sobre bactérias Gram positivo e bactérias Gram negativo, nomeadamente em *S. aureus* na flora nasal e no género *Neisseria* spp. na flora nasal e orofaríngea. Dado que, nas patologias estudadas os indivíduos apresentam elevados níveis de colonização por *S. aureus*, em comparação com indivíduos saudáveis, pode considerar-se o tratamento termal eficaz nestes microrganismos podendo assim promover a diminuição da inflamação a nível local e a melhoria dos sintomas e qualidade de vida dos doentes após tratamento.

A emergência de resistências também tem sido documentada no *S. aureus* principalmente pelo uso continuado de antibióticos na CRS. Os MRSA's isolados em dois doentes neste estudo, diminuíram o número de UFC após tratamento, o que indica tanto a possibilidade de tratamento de doentes com CRS colonizados por bactérias multirresistentes como a possibilidade futura da utilização das águas sulfúreas em tratamentos de doentes hospitalares.

Do ponto de vista inflamatório decidiu-se restringir o estudo aos portadores de *S. aureus* dada a sua elevada taxa de colonização por estirpe a nível nasal, nas patologias estudadas, a sua capacidade de potenciar a resposta inflamatória através da produção de enterotoxinas e os recentes estudos microbiológicos tanto *in vivo* como *in vitro* da capacidade bactericida da água sulfúrea naquela bactéria.

Nas células do sangue periférico, não se obtiveram diferenças estatisticamente significativas à exceção do número total de eosinófilos em indivíduos com rinite alérgica colonizados e não colonizados por *S. aureus*. Esta evidência salienta a importância deste microrganismo nos processos inflamatórios alérgicos.

Relativamente às variações dos parâmetros inflamatórios nos doentes com rinite alérgica e CRS, verificou-se um aumento estatisticamente significativo nas concentrações de Ig A, Ig M e triptase. O aumento das imunoglobulinas fundamenta a

ação anti-inflamatória destas águas, favorecendo a neutralização do agente patogénico e a ativação do complemento e, consequentemente, lise bacteriana. Ao subdividir a população de estudo em portadores e não portadores de *S. aureus*, verificou-se que apenas evidenciaram variações significativas ao nível da Ig A, Ig M e triptase em indivíduos não portadores desta estirpe. Estes resultados foram inesperados devido à significância estatística na redução de *S. aureus* na flora nasal após o tratamento. Para além disso, apesar da colonização de *S. aureus* não estar relacionada com a atopia, verificou-se em termos médios que os portadores de *S. aureus* apresentam maiores níveis de Ig E que os não portadores. Em termos individuais a Ig E diminuiu em 46% dos indivíduos colonizados contudo não foi estatisticamente significativa.

Em suma, conclui-se que a água termal apresenta um efeito bactericida, diminuindo a teor bacteriano e anti-inflamatório, pelo aumento de Ig A e Ig M, contribuindo para a diminuição da inflamação, redução dos sintomas e consequente melhoria da qualidade de vida dos doentes.

Para além disso, o efeito mecânico de limpeza da mucosa nasal, permite a eliminação de muco e alérgenos conduzindo a uma melhor função respiratória e à redução da produção de Ig E sérica que tanto contribui para a exacerbação da inflamação.

VI. Perspetivas futuras

Para a continuação futura deste projeto seria interessante, em primeiro lugar, dado o aumento MRSA em patologias do foro respiratório, verificar se existe algum efeito água termal sobre estas bactérias tanto *in vitro* como *in vivo*. Neste estudo, os dois MRSA presentes, reduziram após tratamento, o que é um bom indicador. Assim seria importante verificar a eficácia da água termal sulfúrea em indivíduos portadores e doentes infetados com estirpes hospitalares de MRSA. Este estudo poderia também ser alargado a portadores e doentes infetados com *Enterococcus* resistentes vancomicina.

Certos autores admitem a utilização da água termal em CRS recalcitrantes, intimamente relacionada com a presença de biofilmes. Deste modo, sugere-se o estudo do efeito da água termal sulfúrea nos biofilmes bacterianos.

Em terceiro lugar evidenciou-se no nosso estudo o efeito da água termal sulfúrea em cocos Gram positivo e Gram negativo. Estudos recentes afirmam a toxicidade do enxofre como potencial agente bactericida, mas nenhum refere mecanismo de ação do enxofre na bactéria, sendo necessários estudos futuros, possivelmente, através de microscopia eletrónica de forma a comparar ultra-estruturas bacterianas de bactérias isoladas antes e após o tratamento termal. O óxido nítrico é um gás sintetizado a nível nasal capaz de manter a esterilidade relativa dos seios nasais e que se encontra diminuído em indivíduos com CRS, por isso, sugere-se um estudo que correlacione os efeitos tróficos com a diminuição da colonização nasal e um possível aumento deste gás.

Do ponto de vista imunológico este estudo foi pioneiro na avaliação da VS, PCR, C3, C4 e triptase em indivíduos antes e após tratamento termal, no entanto, seria importante confirmar os dados obtidos três e seis meses depois de finalizado o tratamento.

Quanto às células do sangue periférico neste estudo não se observaram diferenças significativas após tratamento, contudo seria de toda a utilidade avaliar o efeito da água termal na histologia da mucosa nasal e orofaríngea, células residentes, periféricas e produção local de mediadores de inflamação num estudo a longo prazo. Esta avaliação não deve englobar apenas as células inflamatórias, mas também a variação da colonização e as alterações nos parâmetros inflamatórios ao longo do tempo.

Por fim, seria bastante interessante comparar as flutuações da colonização e dos diversos parâmetros inflamatórios tanto a nível local como sistêmico em indivíduos que realizam tratamento termal e os que realizam apenas terapêutica farmacológica de forma a quantificar os custos/benefícios de ambas as terapêuticas a curto, médio e longo prazo.

VII. Referências bibliográficas

- Abdelmor, A., Kobeissy, F., Farhat, D. e Hadi, U. (2004). Circulating immune complexes and complement C3 and C4 levels in a selected group of patients with rhinitis in Lebanon. Clin Mol Allergy. 2: 6.
- Aerts, S. (2009). “Effect of Geochemical Conditions on Bacterial activity”. (acedido em 5 de Dezembro de 2011). Disponível em: http://publications.sckcen.be/dspace/bitstream/10038/1020/1/er_75.pdf
- Alpoim, M. (2010). Análise à procura termal. Departamento de Economia Gestão e Engenharia Industrial, Universidade de Aveiro.
- Amaral, H. (2010). Evidencias científicas da Medicina Termal – Crenoterapia. Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar – Universidade do Porto.
- Amin, K. (2012). The role of mast cells in allergic inflammation. Respir Med. 106(1): 9-14.
- Araujo, E., Dall, C., Cantarelli, V., Pereira, A. e Mariante, A. (2007). Microbiology of Middle Meatus in Chronic Rhinosinusitis. Rev Bras Otorrinolaringol. 73(4):549-55.
- Arosa, F., Cardoso, E. e Pacheco, F. (2007). Fundamentos de imunologia. Lisboa: Lidel.
- ATP (Associação de Termas de Portugal). (2011). “Glossário termal” acedido dia 2 Novembro 2011, disponível em: <http://www.termasdeportugal.pt/>
- Bachert, C., Gevaert, P. e Van Cauwenberge, P. (2002). *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a key in airway disease?. Allergy. 57: 480-487.
- Baysoy, G., Arslan, S., Karabay, O. e Uyan, A. (2007). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in children with allergic rhinitis and the effect of intranasal fluticasone propionate treatment on carriage status. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 71(2):205-9.
- Belino, C. (2011). O Termalismo e a Rinossinusite Crónica - Um estudo observacional nas Termas de Unhais da Serra. Universidade da Beira Interior - Faculdade Ciência da Saúde.
- Bellometti, S. (2009). State of the art in Italian research in Spa therapy and in balneotherapy. Press Therm Climat. 146: 277-282.

- Bousquet, J., Khaltaev, N., Cruz, A., Denburg, J., Fokkens, W., Togias, A., *et al.* (2008a). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the world Health Organization, GA²LEN and AllerGen). *Allergy*. 63 Suppl 86:8-160.
- Bousquet, P., Leynaert, B., Neukirch, F., Sunyer, J., Janson, C., Anto, J. *et al.* (2008b). Geographical distribution of atopic rhinitis in the European Community Respiratory Health Survey I. *Allergy*. 63(10):1301-9.
- Braga, P., Dal Sasso, M., Culici, M., Spallino, A., Marabini, L., Bianchi, T., *et al.* (2010). Effects of sulphurous water on human neutrophil elastase release. *Ther Adv Respir Dis*. 4 (6):333-340.
- Braga, P.C., Sambataro, G., Dal Sasso, M., Culici, M., Alfieri, M. e Nappi, G. (2008) Antioxidant effect of sulphurous thermal water on human neutrophil bursts: chemiluminescence evaluation. *Respiration*. 75(2):193-201.
- Brook, I., Foote, P. e Hausfeld, J. (2008). Increase in the frequency of recovery of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in acute and chronic maxillary sinusitis. *J Med Microbiol*. 57 (Pt 8):1015-7.
- Brook, I. e Hausfeld, J. (2011). Microbiology of acute and chronic maxillary sinusitis in smokers and nonsmokers. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 120(11):707-12.
- Brozek, J., Bousquet, J., Baena-Cagnani, C., Bonini, S., Canonica, G., Casale, T.B., *et al.* (2010). Allergic rhinitis and its Impact on Asthma guidelines: 2010 Revision. *J Allergy Clin Immunol*. 126(3):466-76.
- Cazzolla, A., Campisi, G., Lacaita, G., Cuccia, M., Ripa, A., Testa, N., *et al.* (2006). Changes in pharyngeal aerobic microflora in oral breathers after palatal rapid expansion. *BMC Oral Health*. 6:2.
- Chamberlain, N. (2009). *Medical Microbiology*. Lisboa: Mac Graw Hill.
- Chen, H., Liu, X., Ni, C., Lu, Y., Xiong, G. e Lu, Y. (2012). Bacterial biofilms in chronic and their relationship with inflammation severity. *Auris Nasus Larynx*. 39(2):169-74.
- Clark, D., Wenaas, A., Citardi, M., Luong, A. e Fakhri, S. (2011). Chronic rhinosinusitis with nasal polyps: elevated serum immunoglobulin E is associated with *Staphylococcus aureus* on culture. *Int Forum Allergy Rhinol*. 1(6):445-50.

- Coccheri, S., Gasbarrini, G., Valenti, M., Nappi, G. e Di Orio, F. (2008). Has time come for a re-assessment of spa therapy? The NAIADE survey in Italy. *Int J Biometeorol.* 52(3):231-7.
- Cui, Y., Zhang, F., Xiong, Z., You, X., Gao, Q. e Liu, Z. (2009). Increased serum complement component 3 and mannose-binding lectin levels in adult chinese patients with chronic rhinosinusitis. *Rhinology.* 47(2):187-91.
- Deng, Q. e Peng, P. (2012). Changes of etiology of chronic sinusitis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 26(4):166-8.
- Dos Santos, V.M., Cunha, S.F. e Cunha, D.F. (2000). Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações. *Ver.Ass. Med. Brasil.* 46 (3):232-6
- Feazel, L., Frank, D. e Ramakrishnan, V. (2011). Update on bacterial detection methods in chronic rhinosinusitis: implications for clinicians and research scientists. *Int Forum Allergy Rhinol.* 1(6):451-9.
- Ferreira, W. e Sousa, J. (2000). *Microbiologia. Volume 2.* Lisboa: Lidel.
- Fokkens, W., Lund, V., Mullol, J., Bachert, C., Cohen, N., Cobo, R. *et al.* (2007). European Position Paper on Nasal Polyps 2007. *Rhinology.* 45 (suppl. 20): 1-139.
- Galez, D., Dodig, S., Raos, M. e Nagalo, B. (2006). C-reactive protein in children with asthma and allergic rhinitis. *Biochemia Medica.* 16 (2):163-9.
- Ghersetich, I., Brazzini, B. e Hercogova, J. (2001). Mineral waters: instead if cosmetics or better than cosmetics? *Clin Dermatol.* 19: 478-482
- Greiner, A., Hellings, P., Rotiroti, G. e Scadding, G. (2011). Allergic rhinitis. *Lancet.* 378: 2112-22.
- Gutenbrunner, C., Bender, T., Cantista, P. e Karagülle, Z. (2010). A proposal for a worldwide definition of the health resort medicine, balneotherapy, medical hydrology and climatology. *Int J Biometeorol.* 54: 495-507.
- Halken, S. (2003). Early sensitisation and development of allergic airway disease – risk factors and predictors. *Paediatr Respir Rev.* 4(2):128-34.
- Hamilos, D. (2011). Chronic rhinosinusitis: epidemiology and medical management. *J Allergy Clin Immunol.* 128(4):693-707.

Hastan, D., Fokkens, W., Bachert, C., Newson, R., Bislimovska, J. e Bockelbrink, A. (2011). Chronic rhinosinusitis in Europe -- an underestimated disease. A GA²LEN study. *Allergy*. 66(9):1216-23.

Heymans, F., Fischer, A., Stow, N., Girard, M., Vourexakis, Z., Des Courtis, A., *et al.* (2010). Screening for Staphylococcal superantigen genes shows no correlation with the presence or the severity of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. *PLoS One*. 5(3):e9525.

Hunsaker, D. e Leid, J. (2008). The relationship of biofilms to chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 16(3):237-41.

Ikeda, K., Yokoi, H., Kusunoki, T., Saitoh, T., Yao, T., Kase, K. *et al.* (2011). Bacteriology of recurrent exacerbation of postoperative course in chronic rhinosinusitis in relation to asthma. *Auris Nasus Larynx*. 38(4):469-73.

Iñiguez, C. e Fonseca, A. (2006). Role of the superantigens in the etiopathogeny of chronic polypous rhinosinusitis. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*. 66: 33-38.

IPQ (Instituto Português da qualidade). (2010). Águas termais – Riscos e benefícios para a saúde acedido 4 de Novembro 2011. disponível em: http://www.ipq.pt/Backfiles/apresentacoes_CS04/%C3%81guas%20termais_DGS.pdf

Jardeleza, C., Foreman, A., Baker, L., Paramasivan, S., Field, J., Tan, L., *et al.* (2011). The effects of nitric oxide on *Staphylococcus aureus* biofilm growth and its implications in chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 1(6):438-44.

Karabulut, H., Baysal, S., Acar, B., Babademez, M. e Karasen, R. (2011) Allergic rhinitis (AR) in geriatric patients. *Arch Gerontol Geriatr*. 53(3):270-3.

Karuyawasam, H. e Scadding, G. (2011) Chronic rhinosinusitis: therapeutic efficacy of anti-inflammatory and antibiotic approach. *Allergy Asthma Immunol Res*. 3(4):226-35.

Kemp, A. (2009). Allergic rhinitis. *Paediatr Respir Rev*. 10(2):63-8.

Larson, D. e Han, J. (2011). Microbiology of sinusitis: does allergy or endoscopic sinus surgery affect the microbiologic flora? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 19 (3):199-203.

- Li, H., Wang, D., Sun, X., Hu, L., Yu, H. e Wang, J. (2012). Relationship between bacterial biofilm and clinical features of patients with chronic rhinosinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 269(1):155-63.
- Lourenço, O., Fonseca, A. e Taborda-Barata, L. (2009). Asthma is more frequently associated with non-allergic than allergic rhinitis in Portuguese patients. *Rhinology.* 47(2):207-13.
- Mahon, C., Lehman, D. e Manuselis, G. (2007). Text book of diagnostic microbiology. 3ª edição. St. Louis: Saunders Elsevier.
- Matz, H., Orion, E. e Wolf, R. (2003). Balneotherapy in dermatology. *Dermatol. Ther.* 16: 132-140.
- May, A., Zielen, S., Von Ilberg, C. e Weber, A. (1999). Immunoglobulin deficiency and determination of pneumococcal antibody titers in patients with therapy-refractory recurrent rhinosinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 256 :445–449.
- McPhee, S. e Hammer, G. (2006) Pathophysiology of disease: An introduction on to clinical medicine. Lisboa: McGraw Hill Medical. 6ª edição.
- Meltzer, E. e Hamilos, D. (2011). Rhinosinusitis diagnosis and management for the clinician: a synopsis of recent consensus guidelines. *Mayo Clin Proc.* 86(5):427-43.
- Mirandola, P., Gobbi, G., Sponzilli, I., Pambianco, M., Malinverno, C., Cacchioli, A., *et al.* (2007). Exogenous hydrogen sulfide induces functional inhibition and cell death of cytotoxic lymphocytes subsets. *J Cell Physiol.* 213(3): 826-33.
- Moita C. (2011). Caracterização da atividade bactericida da água termal do Cró. Universidade de Aveiro - Departamento de Biologia.
- Mucci, T., Govindaraj, S, e Tversky, J. (2011). Allergic Rhinitis. *Mt Sinai J Med.* 78(5): 634-44.
- Naclerio, R., Bachert, C. e Baraniuk, J. (2010). Pathophysiology of nasal congestion. *Int J Gen Med.* 3:47-57.
- Nasermoaddeli, A. e Kagamimori S. (2005) Balneotherapy in Medicine: A review. *Environmental Health and Preventive Medicine.* 10: 171-179.

- Niederfuhr, A., Kirsche, H., Deutschle, T., Poppert, S., Riechelmann, H. e Wellingshausen, N. (2008). *Staphylococcus aureus* in nasal lavage and biopsy of patients with chronic rhinosinusitis. *Allergy*. 63(10):1359-67
- Ottaviano, G., Marioni, G., Staffieri, C., Giacomelli, L., Marchese-Ragona, R., Bertolin, A., *et al.* (2011). Effects of sulphurous, salty, bromic, iodine thermal water nasal irrigations in nonallergic chronic rhinosinusitis: a prospective, randomized, double-blind, clinical and cytological study. *Am J Otolaryngol*. 32(3):235-9
- Pandak, N., Pajić-Penavić, I., Sekelj, A., Tomić-Paradžik, M., Čabraja, I. *et al.* (2011). Bacterial colonization or infection in chronic sinusitis. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 123: 710-713.
- Payne, S., Borish, L. e Steinke, J. (2011). Genetics and phenotyping in chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 128(4):710-20;
- Pereira, A., Dias, J., Neves, L. e Godinho, M. (2001). Radon-gas in mineral water: evaluation of radiation risk in Spa. *Publicação do departamento de Ciências da Terra e do Museu Mineralógico e Geológico da Universidade de Coimbra*.
- Pereira, M. (1991). As águas sulfúreas sódicas das termas de Unhais da Serra e de Manteigas. *Universidade da beira Interior – Departamento de Química*.
- Petraccia, L., Liberati, G., Masciullo, S., Grassi, M. e Fraioli, A. (2006). Water, mineral waters and health. *Clinical Nutrition*. 25: 377-385.
- Pinheiro, C. (2011). Avaliação microbiana da flora nasofaríngea após terapia termal. *Universidade de Aveiro - Departamento de Biologia*.
- Predmore, B., Lefer, D. e Gojon, G. (2012). Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid Redox Signal*. 17(1):119-40.
- Quraishi, S., Davies, M. e Craig, T. (2004). Inflammatory responses in allergic rhinitis: traditional approaches and novel treatment strategies. *J Am Osteopath Assoc*. 104 (Suppl 5): S7-15.
- Refaat, M., Ahmed, T., Ashour, Z. e Atia, M. (2008). Immunological role of nasal *Staphylococcus aureus* carriage in patients with persistent allergic rhinitis. *Pan Afr Med J*. 1: 3.

- Riechelmann, H., Essig, A., Deutschle, T., Rau, A., Rothermel, B. e Weschta, M. (2005). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in house dust mite allergic patients and healthy controls. *Allergy*. 60(11): 1418-23.
- Rinaldi, L., Gobbi, G., Pambianco, M., Micheloni, C., Mirandola, P. e Vitale, M. (2006). Hydrogen sulfide prevents apoptosis and human PMN via inhibition of p38 and caspase 3. *Lab Invest*. 86(4): 391-7.
- Rondón, C., Fernandez, J., Canto, G. e Blanca, M. (2010). Local allergic rhinitis: concept, clinical, manifestations, and diagnostic approach. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 20(5):364-71.
- Rosenfeld, R., Andes, D., Bhattacharyya, N., Cheung, D., Eisenberg, S., Ganiats, T. *et al.* (2007). Clinical practice guideline: adult sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 137 (Suppl 3):S1-31.
- Saladin, K. e Van Wynsberghe, D. (2001). *Anatomy & Physiology: the unity of form and function* Lisboa: Mac Graw Hill. 2ª edição.
- Salami, A., Dellepiane, M., Crippa, B., Mora, F., Guastini, L., Jankowska, B., *et al.* (2008). Sulphurous water inhalations in the prophylaxis of recurrent upper respiratory infections. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 72(11):1717-22.
- Salami, A., Dellepiane, M., Strinati, F., Guastini, L. e Mora, R. (2010). Sulphurous thermal water inhalations in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Rhinology*. 48: 71-6.
- Schwartz, L. (2006). Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 26(3):451-63.
- Seeley, R.R., Stephens, T. e Philip, T. (2005). *Anatomia e Fisiologia*. Loures: Lusociência.
- Seppänen, M., Suvilehto, J., Lokki, M.L., Notkola, I.L., Järvinen, A., Jarva, H., *et al.* (2006). Immunoglobulins and complement factor C4 in adult rhinosinusitis. *Clin Exp Immunol*. 145(2): 219-27.
- Shiomori, T., Yoshida, S., Miyamoto, H. e Makishima, K. (2000). Relationship of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* to pathogenesis of perennial allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 105(3):449-54.

- Shiue, H.S., Lee, Y.S., Tsai, C.N., Hsueh, Y.M., Sheu, J.R e Chang, H.H. (2010). Gene expression profile of patients with phadiatop-positive and -negative allergic rhinitis treated with acupuncture. *J Altern Complement Med.* 16(1):59-68.
- Solares, C., Batra, P., Hall, G. e Citardi M. (2006). Treatment of chronic rhinosinusitis exacerbations due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with mupirocin irrigations. *Am J Otolaryngol.* 27(3):161-5.
- Staffieri, A. e Abramo, A. (2007). Sulphurous-arsenical-ferruginous (thermal) water inhalations reduce nasal respiratory resistance and improve mucociliary clearance in patients with chronic sinonasal disease: preliminary outcomes. *Acta Otolaryngol.* 127(6):613-7.
- Staffieri, A., Marino, F., Staffieri, C., Giacomelli, L., D'Alessandro, E., Ferrano, S., *et al.* (2008). The effects of sulfurous-arsenical-ferruginous thermal water nasal irrigation in wound healing after functional endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis: a prospective randomized study. *Am J Otolaryngol.* 29: 223-9.
- Staikūniene, J., Vaitkus, S., Japertiene, L.M. e Ryskiene, S. (2008). Association of chronic rhinosinusitis with nasal polyps and asthma: clinical and radiological features, allergy and inflammation markers. *Medicina (Kaunas).* 44(4):257-65.
- Stone, D., Prussin, C. e Metcalfe, D. (2010). Ig E, mast cell, basophils and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol.* 125 (Supl 2):S73-80.
- Tamás, B., Karagülle, Z. e Bálint, G. (2005). Hydrotherapy, balneotherapy and spa treatment in pain management. *Rheumatol Int.* 25: 220-4.
- Tamashiro, E., Antunes, M., Palmer, J., Cohen, N. e Anselmo-Lima, W. (2009). Implications of bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Braz J Infect Dis.* 13(3): 232-5.
- Thornton, K., Alston, M., Dye, H. e Williamson, S. (2011). Are saline irrigation effective in relieving chronic rhinosinusitis symptoms?. A review of the evidence. *Journal for Nurse Practitioners.* 7(8):680-686.
- Todo-Bom, A., Loureiro, C., Almeida, M., Nunes, C., Delgado, L., Castel-Branco, G., *et al.* (2007). Epidemiology of rhinitis in Portugal: evaluation of intermittent and the persistent types. *Allergy.* 62(9):1038-43.

- Tran, N., Vickery, J. e Blaiss, M. (2011). Management of rhinitis: allergic and non-allergic. *Allergy Asthma Immunol Res.* 3(3):148-56
- Valero, A., Pereira, C., Loureiro, C., Martinez-Cócer, C., Murio, C., Rico, P., *et al.* (2009). Interrelationship between skin sensitization, rhinitis and asthma in patients with allergic rhinitis: A study of Spain and Portugal. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 19(3):167-72.
- Van Crombruggen, K., Zhang, N., Gevaert, P., Tomassen, P., Bachert, C. (2011). Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 128(4):728-32.
- Van Tubergen, A. e Van der linden, S. (2002). A brief of spa therapy. *Ann Rheum Dis.* 61: 273-5.
- Wang de, Y. (2011). Genetic predisposition for atopy and allergic rhinitis in the Singapore Chinese population. *Asia Pac Allergy.* 1(3):152-6.
- Watelet, J., Eloy, P. e Van Cauwenberge, P. (2007). Drug management in chronic rhinosinusitis identification of the needs. *Ther Clin Risk Manag.* 3(1):47-57.
- Xu, Y., Wang, S. e Zhou, S. (2006). The value of Phadiatop and spot skin test in diagnosis of allergic rhinitis. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi.* 20(5):201-3.
- You, H., Zhuge, P., Li, D., Shao, L., Shi, H. e Du, H. (2011). Factors affecting bacterial biofilm expression in chronic rhinosinusitis and the influences on prognosis. *Am J Otolaryngol.* 32(6):583-90.

Anexo I



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Faculdade de Ciências

Consentimento informado

No âmbito do **projeto CENTRO-01-CT62-FEDER-002035, da Universidade da Beira Interior – Faculdade de Ciências**, pretende realizar-se um estudo sobre os efeitos do termalismo em doentes com patologia respiratória. Para esse efeito, solicitamos a sua colaboração no preenchimento deste questionário e a colheita de sangue e exsudados nasais e orofaríngeos antes e depois do tratamento.

Assinale com um círculo em redor da opção que pretende marcar e no caso de cometer algum erro, marque com um X por cima do círculo previamente assinalado e escolha a resposta correta.

Asseguramos, desde já a confidencialidade das respostas, bem como a garantia da utilização dos dados apenas para fins de investigação, tal como prevê o Protocolo de Helsínquia.

Antecipadamente gratos pela vossa colaboração.

Assinatura: _____

Anexo II

Nº Ref^ª. _____

Preencha com letra de imprensa

Data de início:

Data de fim:

Parte I – Dados pessoais

1. Nome Completo _____

2. Sexo:

- a. Feminino
- b. Masculino

3. Idade: _____ (Anos)

4. Habilitações literárias:

- a. Sem habilitações literárias
- b. 4º Ano
- c. 9º Ano
- d. 12º Ano
- e. Licenciatura
- f. Estudos Avançados (Pós-graduação, Mestrado, Doutorado)

5. Peso

- a. Peso Inicial _____ (kg)
- b. Peso Final _____ (kg)

Parte II– Dados clínicos

1. De que problema respiratório sofre:

- a. Rinite
- b. Sinusite
- c. Rinossinusite
- d. Outra doença respiratória

Caso sofra de Rinite ou de Sinusite avance para a questão número 2 ou 3, respetivamente.

2. Sofre de Rinite crónica:

- a. Alérgica
- b. Atrófica
- c. Vasomotora

3. Sofre de Sinusite crónica:

- a. Alérgica
- b. Infeciosa
- c. Traumática

4. Com que idade foi-lhe diagnosticado a patologia?

- a. 10-20
- b. 21-30
- c. 31-45
- d. 46-60
- e. Mais de 60

5. Os sintomas associados à doença ocorrem sobretudo no/ (a):

- a. Primavera
- b. Verão
- c. Outono
- d. Inverno
- e. Todas as estações do ano

6. É fumador?

- a. Sim
- b. Não
- c. Ex-fumador

6.1 Se sim ou é ex-fumador, que idade tinha quando começou a fumar?

- i. 5-15anos
- ii. 16-30 anos
- iii. 31-50 anos
- iv. Idade superior aos 50 anos

6.2 Em média, quantos cigarros fuma/fumava por dia?

- i. 0-5
- ii. 6-10
- iii. 11-20
- iv. Superior a 20

6.3 Se é ex-fumador com que idade deixou de fumar?

- i. 20-30 anos
- ii. 31- 40 anos
- iii. 41-50 anos
- iv. Idade superior aos 50 anos

Caso seja **mulher com ciclo menstrual** responda às perguntas que se seguem, caso contrário prossiga o questionário na pergunta 9.

7. Utiliza métodos contraceptivos?

- a. Sim
- b. Não

7.1 Se sim, a que tipos de anticoncepcionais recorre?

- i. Pílula
- ii. Diu
- iii. Outros

8. Durante o ciclo menstrual sente em algum momento que os sintomas da doença se agravam?

- a. Sim, na semana da menstruação
- b. Sim, após a semana da menstruação
- c. Sim, noutro momento do ciclo.
- d. Não sinto qualquer alteração ou agravamento dos sintomas

9. Já fez cirurgia às amígdalas/adenoides/ouvido?

- a. Sim
- b. Não

9.1 Com que idade?

- i. 2-10 anos
- ii. 11-20 anos
- iii. 21-30 anos
- iv. 31-40 anos
- v. Superior a 40anos

10. Estes sintomas já restringiram ou dificultaram as suas atividades regulares em casa, no trabalho ou na prática desportiva?

- a. Sim
- b. Não

11. Já recorreu ao serviço de urgência hospitalar devido ao agravamento de sintomas?

- a. Sim
- b. Não

Caso sofra de sinusite/rinossinusite avance para a questão 15

12. Quando os sintomas aparecem são:

- a. Intermitentes (menos de 4 dias numa semana e menos de 4 semanas consecutivas)
- b. Persistentes (mais de 4 dias numa semana e mais de 4 semanas consecutivas)

13. Alguma vez teve sibilos?

- a. Sim
- b. Não

14. Nos últimos doze meses teve sibilos?

- a. Sim
- b. Não

14.1 Se sim, quantos episódios de sibilância teve?

- i. 1-3
- ii. 4-12
- iii. Mais de 12

15. Nos últimos 12 meses já acordou durante a noite por agravamento dos sintomas da doença?

- a. Sim
- b. Não

15.1 Se sim, com que frequência?

- i. Todas as noites
- ii. Mais de uma vez por semana mas não na maioria das noites
- iii. Pelo menos duas vezes por mês
- iv. Menos de duas noites por mês

16. Nos últimos doze meses teve algum tipo de infecção respiratória?

- a. Sim
- b. Não

17. Nos últimos doze meses teve sintomas como espirros, corrimento nasal e congestão nasal quando não estava constipado ou com gripe?

- a. Sim
- b. Não

Responda à questão seguinte se sofrer de sinusite/rinossinusite, caso contrário passe para a questão 19.

18. Para o diagnóstico da Sinusite/Rinossinusite foi realizado algum raio-X ou tomografia computadorizada?

- a. Sim
- b. Não

19. A escala representada pretende avaliar o nível de intensidade dos sintomas que sente. Dentro desta escala pode escolher um intervalo.

0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

A escala representada pretende avaliar o nível de intensidade dos sintomas que sente.

O **nível 0** significa que não se sente afetado.

O **nível 10** significa que sente alterações significativas na sua qualidade de vida.

Parte III – Dados sobre Termalismo

1. Quem lhe recomendou o tratamento termal?

- a. Aconselhamento Médico
- b. Decisão Pessoal

2. Com que frequência anual recorre ao termalismo?

- a. 1 Vez /ano
- b. 2 Vezes/ano
- c. Mais de 2 vezes /ano

3. Desde quando recorre a tratamentos termais?

- a. 1º Vez
- b. Desde há um ano
- c. Entre 2 e 5 anos
- d. Entre 6 e 10 anos
- e. Mais de 10 anos

3.1. Se realiza tratamentos termais à mais de 10 anos, à quantos anos faz?

4. Recorre ao termalismo como:

- a. Única terapêutica
- b. Auxiliar à terapêutica farmacológica

4.1. Que terapêutica recorre durante o tratamento termal? _____

5. Que tipo de tratamentos faz na estância?

- a. Nebulização individual
- b. Irrigação nasal
- c. Aerossol sónico
- d. Pulverização faríngea
- e. Todas as anteriores

5.1. Quantas vezes faz cada tratamento? _____

Caso seja a primeira vez que realiza tratamentos termais avance para a questão 13.

6. Na sua opinião, de entre os tratamentos referidos anteriormente, qual se revela mais eficaz? _____

7. Ingere água termal?

- a. Sim
- b. Não

7.1 Se sim, quantos litros bebe por dia:

- i. Menos de 0.5L
- ii. Entre 0.5L e 1.5L
- iii. Mais de 1.5L

8. Qual a duração do tratamento termal atual?

- a. 11Dias
- b. Entre 12 a 13 dias
- c. Entre de 14 a 15 dias
- d. Mais de 15dias

9. No final dos tratamentos sente que:

- a. Melhorou Consideravelmente
- b. Não Melhorou
- c. Piorou

10. Após o tratamento termal diminuiu a toma de medicamentos para a doença?

- a. Sim
- b. Não

11. Os efeitos da terapia termal manifestam-se:

- a. A longo prazo (superior a 9 meses)
- b. A Médio /Curto prazo (3 a 9 meses)

12. Após o tratamento termal sente melhorias na sua qualidade de vida?

- a. Sim
- b. Não

13. Durante os tratamentos termais recorre à terapêutica farmacológica?

- a. Sim
- b. Não

13.1 Se sim, qual?

- i. Antibióticos

Quais _____

- ii. Descongestionantes

Quais _____

- iii. Corticosteróides inalados

Quais _____

- iv. Corticosteróides em comprimidos

Quais _____

- v. Anti-Histamínicos

Quais _____

Obrigado pela disponibilidade